

Helsingin yliopisto

Eläinlääketieteellinen tiedekunta

Elintarvikehygienian osasto

Spontaanifermentaation mikrobiologisten riskien hallinta kasvisruokien valmistuksessa - kirjallisuuskatsaus

Nelli Pöllänen

Eläinlääketieteen lisensiaatin tutkielma

2021

Tiedekunta – Fakultet – Faculty Eläinlääketieteellinen tiedekunta		Laitos – Institution – Department Helsingin yliopisto	
Tekijä – Författare – Author Nelli Pöllänen			
Työn nimi – Arbetets titel – Title Spontaanifermentaation mikrobiologisten riskien hallinta kasvisruokien valmistuksessa - kirjallisuuskatsaus			
Oppiaine – Läroämne – Subject Elintarvikehygieniä			
Työn laji – Arbetets art – Level Eläinlääketieteen lisensiaatin tutkielma	Aika – Datum – Year 2021	Sivumäärä – Sidoantal - Number of pages 40	
<p>Tiivistelmä – Referat – Abstract</p> <p>Spontaanifermentaatio on historiallisesti merkittävä elintarvikkeiden säilöntätapa. Myös nykyaikana spontaanisti fermentoidut ruokalajit ovat tärkeä osa ruokailutottumuksia maailmanlaajuisesti. Tässä kirjallisuuskatsauksessa kartoitetaan, millaisia mikrobiologisia riskejä spontaanisti fermentoitujen kasvisruokien valmistukseen liittyy ja miten näitä riskejä voidaan hallita. Spontaanilla fermentaatiolla valmistettujen kasvisruokien mikrobiologisista riskeistä on saatavilla tietoa, mutta tämä tieto on hajanaista. Aihe on ajankohtainen, sillä hapatuksen suosio on noussut muutaman viime vuoden aikana ja sitä harrastetaan yhä enemmän myös kotikeittiöissä.</p> <p>Spontaani eli luonnollinen fermentaatio perustuu raaka-aineessa olevien mikrobien lisääntymiseen olosuhteissa, jotka suosivat tietynlaista mikrobikehitystä. Tärkeässä roolissa tässä kehityksessä ovat maitohappobakteerit, jotka hapattavat tuotteen muodostamalla aineenvaihdunnallaan hiilihydraateista maitohappoa. Lämpötila, hapettomuus, suolan määrä ja fermentaatioaika ohjaavat fermentaatioprosessia. Nopea happamoituminen eli pH-arvon lasku on avainasemassa hapatuksen onnistumiselle.</p> <p>Spontaaniin fermentaatioon liittyy mikrobiologisia riskejä, sillä raaka-aineiden mikrobiomien rakenne ja muun muassa lajikirjo vaihtelee runsaasti. Tällöin raaka-aine voi sisältää esimerkiksi lopputuotteen pilaantumista tai ruokamyrkytyksiä aiheuttavia bakteereita. Kontaminaatio eli saastuminen voi tapahtua myös prosessin aikana. Riskejä pyritään hallitsemaan asettamalla fermentoitavien ruokien olosuhteet sellaisiksi, että haitalliset mikrobit eivät pääse lisääntymään. Tämä tarkoittaa riittävää happamuutta sekä riittävää suolan määrää. Fermentointiprosessille täytyy antaa myös riittävästi aikaa, jotta saavutetaan haluttu happamuustaso. Haitallisten mikrobien kasvua hillitsee osaltaan myös kilpailu maitohappobakteerien kanssa sekä näiden tuottamat antimikrobiset yhdisteet, kuten bakteriosiinit. Taudinaiheuttajabakteerien lisäksi fermentoitujen tuotteiden riskejä voivat olla toksiinit, kuten biogeeniset amiinit ja homemyrkyt, sekä bakteerien antibioottiresistenssi.</p> <p>Ruokamyrkytystapaukset spontaanisti fermentoituihin elintarvikkeisiin liittyen ovat mahdollisia, mutta usein ne johtuvat fermentaatioprosessin epäonnistumisesta tai riittämättömästä hapatuksesta. Spontaanisti fermentoidut kasvisruokat eivät ole merkittävä ruokamyrkytysten aiheuttaja, eikä asianmukaisesti fermentoitujen tuotteiden ole raportoitu aiheuttaneen ruokamyrkytyksiä. Kestävän ruoantuotannon näkökulmasta spontaanifermentaatio ruoanvalmistusmenetelmänä on varteenotettava vaihtoehto ja fermentaatio yleisesti on kiinnostava tutkimuskohde esimerkiksi ruoantuotannon kierrätysratkaisujen mahdollisuuksiin.</p>			
Avainsanat – Nyckelord – Keywords Spontaanifermentaatio, Luonnollinen fermentaatio, Kimchi, Hapankaali, Maitohappobakteerit			
Työn johtaja ja ohjaaja – Instruktor och ledare – Director and Supervisor Johanna Björkroth ja Elina Säde			
Säilytyspaikka – Förvaringställe – Where deposited HELDA – Helsingin yliopiston digitaalinen arkisto			

SISÄLLYS

1 JOHDANTO.....	1
2 SPONTAANIFERMENTAATIO MAAILMAN RUOKAKULTTUUREISSA.....	3
3 SPONTAANIFERMENTAATION PERIAATTEET JA OLOSUHTEET	8
3.1. Periaatteet	8
3.2 Fermentaatio-olosuhteet	9
4 MIKROBIRYHMIEN MERKITYS FERMENTAATIOPROSESSISSA.....	11
4.1 Maitohappobakteerit.....	11
4.2 Hiivat	13
4.3 Homeet.....	14
5 MIKROBIOLOGISET RISKIT JA NIIDEN HALLINTA.....	16
5.1 Fermentoituhiin kasvisruokiin liitetty ruokamyrkytykset	16
5.2 Kontaminaation ehkäisy ja hygieenisen toiminnan merkitys	16
5.3 Patogeenisten bakteerien torjunta valmistusprosessissa.....	19
5.3.1 Oliivit.....	19
5.3.2 Kimchi.....	22
5.3.3 Hapankaali	24
5.3.4 Yhteenveto patogeenisten bakteerien torjunnasta.....	26
5.4 Toksiset riskit	27
5.4.1 Biogeeniset amiinit	27
5.4.2 Mykotoksiinit.....	28
5.5 Antibioottiresistenssi	29
6 SPONTAANIFERMENTAATIO JA KESTÄVÄ RUOANTUOTANTO	31
7 POHDINTA	34
LÄHTEET	36

1 JOHDANTO

Fermentointi eli hapattaminen on historiallisesti vanhin sekä tärkein ruoanvalmistusmenetelmä ja sitä onkin yleisesti käytetty lopputuotteen säilyvyyden parantamiseen jo aikana, jolloin kylmäketjua ja tuotantohygieniaa ei vielä pystytty hyödyntämään (Erkmen & Bozoglu, 2016). Säilyvyyden lisäksi fermentaatiolla voidaan vaikuttaa suotuisasti myös muihin raaka-aineen ominaisuuksiin, kuten esimerkiksi parempaan makuun, imeytyvyyteen ja hyväksikäytettävyyteen elimistössä sekä haitallisuuden vähentämiseen (Erkmen & Bozoglu, 2016). Ensimmäiset fermentoidut elintarvikkeet valmistettiin spontaanilla eli luonnollisella fermentaatiolla, jossa raaka-aineessa valmiiksi olevat mikrobit vastaavat hapattavan käymisprosessin käynnistymisestä ja ylläpidosta (Montet & Ray, 2015). Fermentaatio on kuitenkin säilyttänyt paikkansa tärkeänä ruoanvalmistusmenetelmänä, vaikka kehitys on vienyt monia elintarvikkeiden valmistustapoja ja niihin liittyvää teknologiaa eteenpäin (Motarjemi, 2002).

Spontaanifermentaatio elintarvikkeiden valmistusmenetelmänä on löydetty aikanaan yrityksen ja erehdyksen kautta (Motarjemi, 2002) ja tämän tietotaidon hallitseminen sekä sen siirtyminen sukupolvelta toiselle on kiinteässä yhteydessä kulttuuriin ja perinteisiin (Erkmen & Bozoglu, 2016). Nykypäivänä käsityöläisyyden noustua trendikkääksi erityisesti kehittyneissä länsimaissa on elintarvikkeiden valmistuksesta fermentoimalla tullut jälleen suosittua, eikä tätä suosiota vähennä hapattamalla tuotettujen elintarvikkeiden mahdolliset positiiviset terveysvaikutukset (Marco et al., 2017). Kuluttajien kiinnostus fermentoituihin ruokiin voi osaltaan perustua ajatukseen, että kuumentamatta valmistetuissa kasvipohjaisissa elintarvikkeissa säilyvät paremmin muun muassa vitamiinit ja hyödylliset maitohappobakteerit. Hapatuksen suosion taustalla voi olla myös ajatus jonkinlaisesta vastaiskusta valmis- ja pikaruokakulttuurille. Nykyaikana kuluttajat vaativat ruoantuotannolta hyvin korkeaa ja tasaista laatua, mikä on helposti saavutettavissa prosessoiduissa ja tarkasti säädellyillä tuotantomenetelmillä valmistetuissa elintarvikkeissa, mutta luonnollisen fermentaation kaltaisessa vapaammassa prosessissa tasalaatuisuuden saavuttaminen voi hankaloitua. Lopputuotteen laatu ja ominaisuudet riippuvat hapattamisprosessiin osallistuvista mikrobeista ja pienikin vaihtelu mikrobien lajistossa tai määrässä voi muuttaa näitä ominaisuuksia (Marco et al., 2017). Tästä on seurauksena, että spontaanilla fermentaatiolla tuotettu elintarvike on aina omalla tavallaan ainutlaatuinen, sillä raaka-aineiden luonnollisessa mikrobistossa on poikkeuksetta vaihtelua. Luonnollinen fermentaatio tuntuukin sopivan

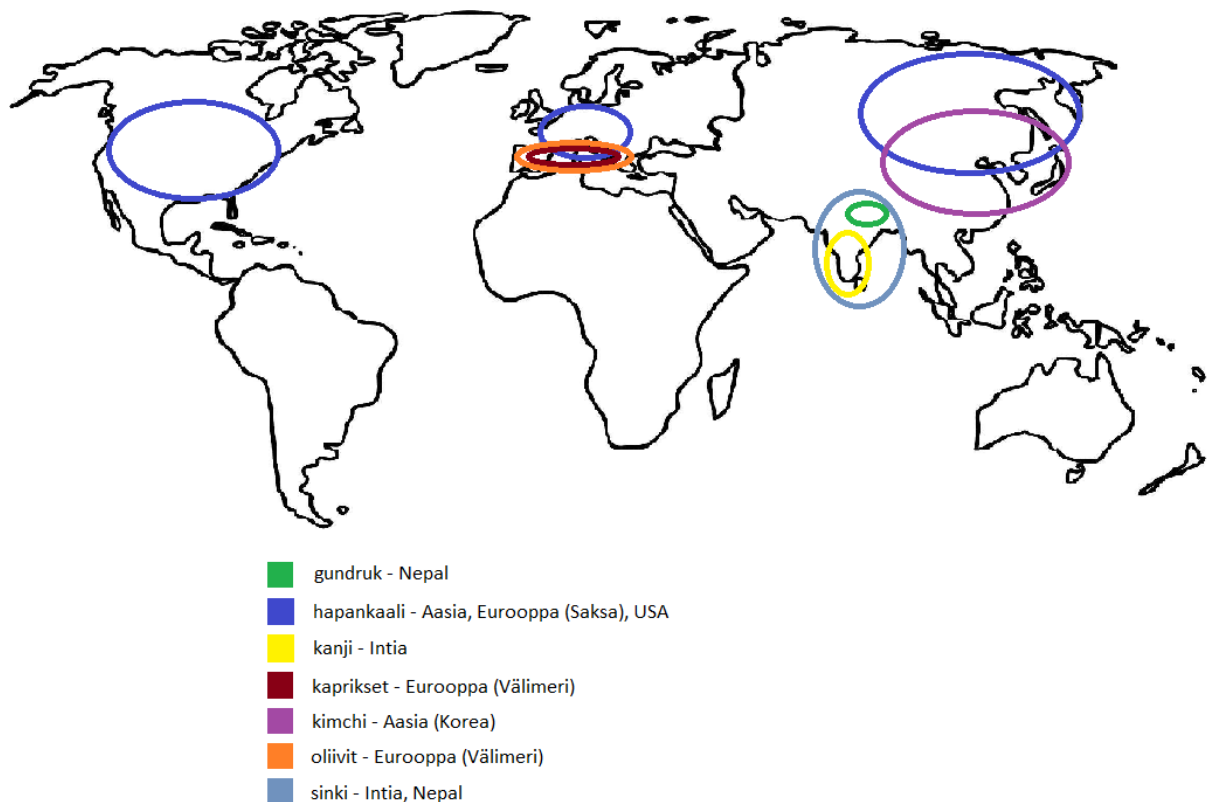
vaihtelevuutensa vuoksi paremmin pienemmän mittakaavan ruoanvalmistukseen suurien massatuotantolaitosten sijaan. Fermentaatioprosessin yleisenä haasteena elintarviketeollisuudessa onkin tasapainoilu lopputuotteen luontaisen vaihtelevuuden sekä nykyaikaisten laatuvaatimusten, tuotantotehokkuuden ja turvallisuuden välillä (Hutkins, 2006).

Fermentaatiosta elintarvikkeiden valmistusmenetelmänä on laajasti tietoa saatavilla, mutta spontaanifermentaation osalta tieto vaikuttaa hajanaiselta ja tuntuu, ettei selkeää yhteenvetoa ole helposti saatavilla. Myös oma kiinnostukseni kasvisruokiin on kasvanut ja haluan kartuttaa tietoa vaihtoehtoisilla menetelmillä valmistetuista elintarvikkeista. Tämän kirjallisuuskatsauksen tavoitteena on selventää spontaanisti fermentoituihin kasvisruokiin liittyviä mikrobiologisia riskejä sekä keinoja niiden hallitsemiseksi ja nykyaikaisen ruokajärjestelmän odotuksia vastaaviksi. Mikrobiologisista riskeistä bakteerit ovat tärkeimmässä osassa, sillä hapatusprosessi vaatii eläviä bakteereita toimiakseen. Taudinaiheuttajabakteerien lisäksi selvitän mikrobien aineenvaihduntatuotteisiin, kuten toksiineihin ja biogeenisiin amiineihin liittyviä riskitekijöitä. Tarkastelen myös elintarvikkeiden valmistusprosessin hygienian ja toimintatapojen vaikutusta mikrobiologisiin riskeihin. Aihe on ajankohtainen, sillä hapattamisesta on muutamassa vuodessa kasvanut suosittu harrastus kotikeittiöissä. Vaikka fermentointia pidetään yleisesti turvallisena ja siihen liittyviä ruokamyrkytyksiä on vähän, herää itselleni kuitenkin kysymys, tietävätkö kaikki kotikokit, miten fermentoida turvallisesti ja minkälaisia riskejä hapatukseen liittyy.

2 SPONTAANIFERMENTAATIO MAAILMAN RUOKAKULTTUUREISSA

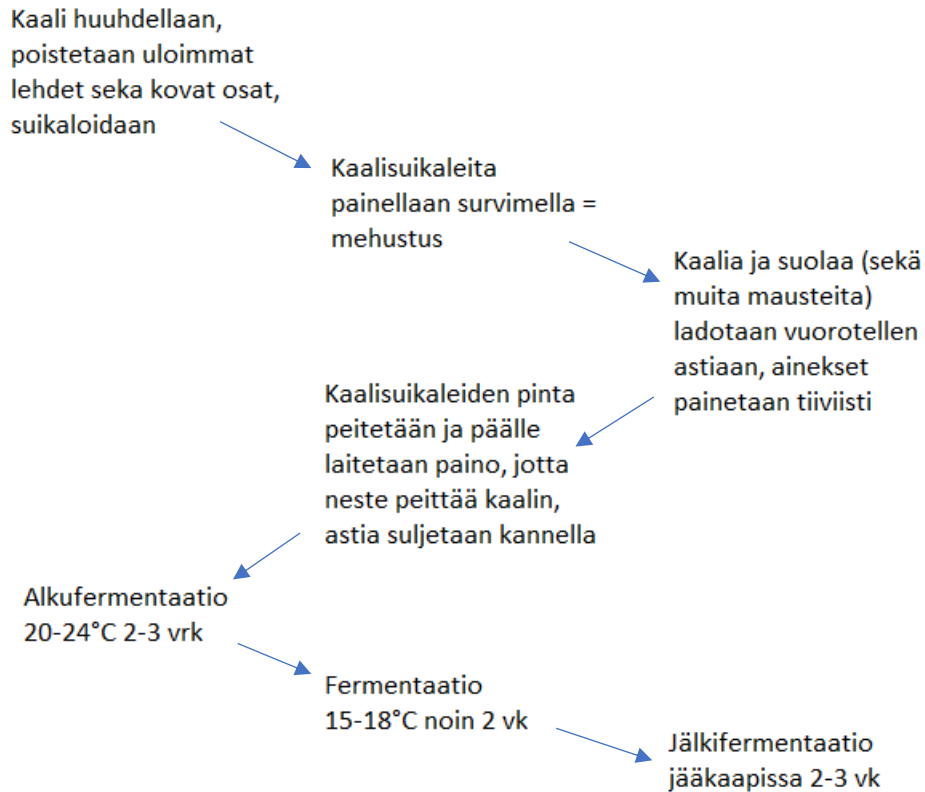
Jo tuhansia vuosia sitten fermentaatiota on käytetty elintarvikkeiden säilöntään ja ruoanvalmistukseen Aasiassa, josta tämän valmistustavan on katsottu myöhemmin rantautuneen Eurooppaan ja sitä kautta edelleen uudisasukkaiden mukana Amerikkaan (Hutkins, 2006). Myös Lähi-idässä fermentaatio on ollut tunnettu menetelmä jo vuosituhansia (Hutkins, 2006). Spontaanifermentaatio ruokien ja juomien valmistus- ja säilöntämenetelmänä on edullinen ja luotettava, minkä vuoksi se onkin yleisesti käytössä kehittyvissä maissa (Anal, Anil Kumar et al., 2020). Luonnollisella fermentaatiolla valmistettuja kasvisruokia on paljon enemmän, kuin mitä perinteiseen suomalaiseen ruokakulttuuriin kuuluu ja matkailun sekä globalisaation myötä maailmalla yleisiä fermentoituja elintarvikkeita on alkanut rantautua yhä enenevässä määrin myös kotimaisiin ruokapöytiin (Björkroth, 2007). Esimerkiksi hapankaalin menekki suomalaisissa ruokakaupoissa on kasvanut viime vuosina, mikä osaltaan kertoo ihmisten makumaailman avartumisesta ja hapatettujen tuotteiden suosion noususta (Mitjonen, 2020).

Nykypäivänä luonnollisella fermentaatiolla valmistetut elintarvikkeet ovat löytämässä uudelleen tietään myös teollistuneiden maiden ruokakulttuureihin (Van Beeck et al., 2020). Nyt ja tulevaisuudessa käsityöläisyyden ja itse tehtyjen tuotteiden suosion nousu voi aiheuttaa sen, että ihmisten kiinnostus ja kulutustottumukset siirtyvät helpoista valmisruoista enemmän itse tuotettujen elintarvikkeiden pariin (Cocolin, Gobbetti, Neviani, & Daffonchio, 2016). Tässä kappaleessa esitellään muutamia yleisimpiä spontaanilla fermentaatiolla valmistettuja elintarvikkeita sekä alueita, joissa niitä runsaasti kulutetaan. Tunnetuimmat spontaanilla hapatuksella valmistetut tuotteet sijoittuva alkuperältään Yhdysvaltoihin, Eurooppaan sekä Aasiaan (kuva 1).



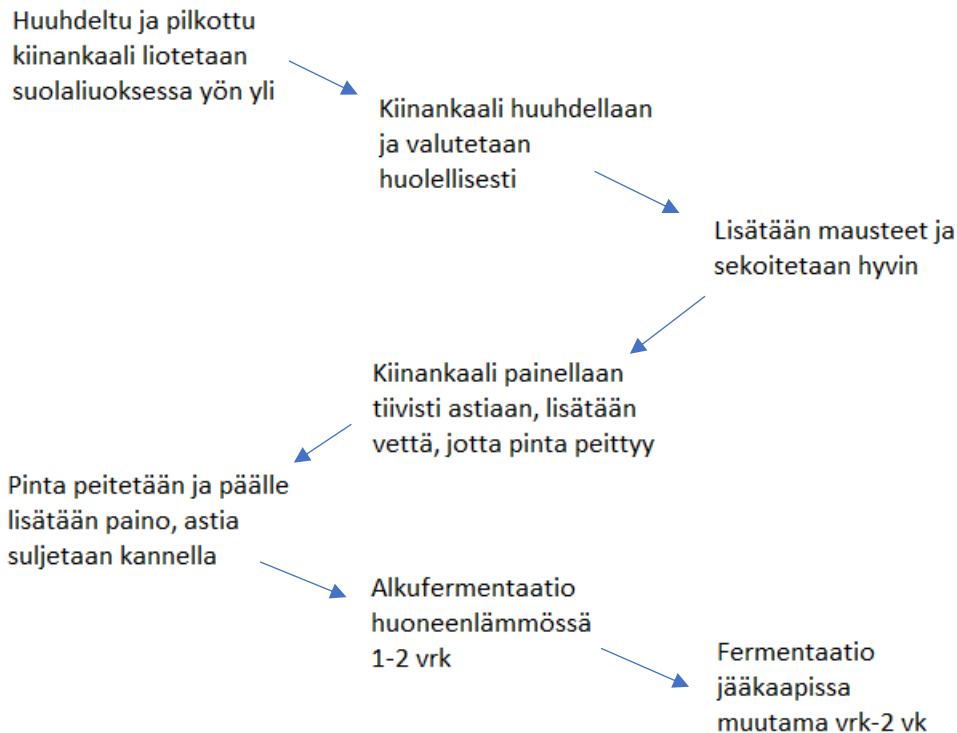
Kuva 1. Spontaanilla fermentaatiolla valmistettuja ruokalajeja ja niiden alkuperämaat.

Länsimaissa, USA:ssa sekä Aasiassa, erityisesti Kiinassa ja Koreassa, hapankaali on merkityksellinen spontaanisti fermentoitu elintarvike (Montet & Ray, 2015). Perinteisesti hapankaali valmistetaan luonnollisella maitohappofermentaatiolla pilkotusta ja suolatusta keräkaalista (kuva 2) ja tällä samalla valmistusmenetelmällä voidaan hapattaa myös muita vihanneksia, kuten porkkanaa, sipulia sekä punajuurta (Montet & Ray, 2015). Myös suolakurkkuja valmistetaan fermentoimalla ympäri maailman (Montet & Ray, 2015). Eräs länsimaisessa ruokakulttuurissa tunnetuista fermentoiduista elintarvikkeista ovat oliivit. Oliiveja kulutetaan paljon ympäri maailmaa, erityisesti Euroopassa ja USA:ssa. Vihreät oliivit fermentoituvat maitohapon avulla ja maun kitkeryys saadaan taitettua fermentaation jälkeen lipeällä, mutta mustille oliiveille riittää pelkkä fermentoituminen (Montet & Ray, 2015). Toinen suosittu eteläeurooppalainen fermentaatiotuote ovat kaprikset, joita käytetään monipuolisesti Välimeren ruokakulttuurissa (Montet & Ray, 2015).



Kuva 2. Kaavio hapankaalin valmistuksesta.

Aasia on tunnettu perinteikkäästä ruokakulttuuristaan ja tähän kuuluu kiinteänä osana myös luonnollisella fermentaatiolla valmistettuja elintarvikkeita (Anal, Anil, 2019). Aasiassa Koreasta lähtöisin oleva kiinankaalista ja retiisistä sekä mausteista valmistettu kimchi on suosittu lisukeruokalaji, jota syödään riisin kanssa lähes joka aterialla (Montet & Ray, 2015). Kimchi onkin noussut myös maailmanlaajuisesti tunnetuksi ruokalajiksi maukkautensa sekä mahdollisten terveyttä edistävien ominaisuuksiensa vuoksi (Jung, Lee, & Jeon, 2014). Suomessa kimchin menekki ruokakaupoissa on vielä pientä, mutta se on kasvussa, sillä erityisesti nuorempi väestö on kiinnostunut trendikkääksi nousseesta korealaisesta ruoasta (Mitjonen, 2020). Kimchin valmistuksessa on paljon samoja elementtejä kuin hapankaalin valmistuksessa, mutta erona ovat alkuvaiheen liotus suolaliuoksessa, huuhtelu ja valutus sekä veden lisääminen fermentointiastiaan (kuva 3). Hapankaalin valmistuksessa raaka-aineen peittävä neste on peräisin kaalista itsestään.



Kuva 3. Kaavio kimchin valmistuksesta.

Gundruk on perinteinen nepalilainen spontaanilla fermentaatiolla valmistettu kasvisruokalaji, johon kuuluu lehteviä osia retiisistä sekä kukkakaalista ja sitä voidaan tarjota lisukkeena, alkuruokana tai keiton osana (Anal, 2019). Intiassa retiisin juurista fermentoimalla valmistettu sinki sekä violeteista porkkanoista valmistettu juoma kanji ovat suosittuja elintarvikkeita (Montet & Ray, 2015). Myös viiniä voidaan valmistaa spontaanin fermentaation avulla rypäleistä (Montet & Ray, 2015). Monet tavat valmistaa elintarvikkeita fermentaation avulla ovat maailmanlaajuisesti tunnettuja, mutta ne saattavat muunnella hieman alueellisesti. Tästä syystä samankaltaisia tuotteita esiintyy useissa kulttuureissa ja globalisaation myötä ruokailutapojen sekoittuminen edistää osaltaan fermentoitujen elintarvikkeiden merkitystä ihmisten ruokailutottumuksissa (Capozzi et al., 2017).

Suomalaisille spontaania fermentaatiota tunnetumpi ruoanvalmistustapa on hallittu fermentaatio, jossa käymisreaktio saadaan aikaan lisäämällä raaka-aineeseen valikoitu mikrobikanta eli heräteviljelmä (Björkroth, 2007). Heräteviljelmä voi olla kaupallinen tuote, kuten esimerkiksi leivonnassa käytetty leivinjauhe, tai heräteviljelmänä voi toimia osa

aiempaa tuote-erää, kuten esimerkiksi hapanjuurileivän valmistuksessa käytettävä leipäjuuri (Voidarou et al., 2020). Hallittua fermentaatiota pystytään kontrolloimaan spontaania versiota paremmin, sillä heräteviljelmässä on halutun tyyppinen fermentaatioprosessin suorittava mikrobikanta ja näiden mikrobien kasvu käynnistyy heti (Björkroth, 2007).

3 SPONTAANIFERMENTAATION PERIAATTEET JA OLOSUHTEET

3.1. Periaatteet

Fermentaation ja fermentoinnin mikrobiologia ja biokemia ovat laajalti tunnettuja ilmiöitä, ja aiheesta on laajasti sekä julkaisuja että katsausartikkeleja. Fermentaatiolla pyritään muokkaamaan elintarvikkeiden ominaisuuksia niin maun kuin koostumuksenkin puolesta, parantamaan niiden säilyvyyttä ja hidastamaan pilaantumista, kasvattamaan ravintoarvoja sekä poistamaan haitallisia aineita tai myrkyllisyyttä (Montet & Ray, 2015). Elintarvikkeisiin liittyvä perinteinen fermentaatioprosessi voidaan luokitella reaktioon osallistuvien mikrobien ja niiden aineenvaihduntatuotteiden mukaan seuraavasti: 1) maitohappokäyminen maitohappobakteerien avulla, 2) sienikäyminen homeiden ja hiivojen avulla sekä 3) emäksinen käyminen (Voidarou et al., 2020). Spontaanisti tapahtuva fermentaatio perustuu lähinnä raaka-aineessa olevien hetero- ja homofermentatiivisten maitohappobakteerien kasvuun ja aineenvaihduntaan sekä mahdolliseen hiivojen prosessiin osallistumiseen (Di Cagno, Coda, De Angelis, & Gobbetti, 2013). Homofermentatiiviset maitohappobakteerit pystyvät tuottamaan aineenvaihduntansa kautta vain yhtä lopputuotetta eli maitohappoa, kun taas heterofermentatiivisten maitohappobakteerien fermentaatiometabolian lopputuotteina voi olla useampia yhdisteitä, kuten maitohappoa, etikkahappoa, etanolia ja hiilidioksidia (Hutkins, 2006).

Pääpiirteissään spontaanifermentaatio saavutetaan lisäämällä tuoreeseen raaka-aineeseen suolaa tai suolaliuosta ja siirtämällä se ilmatiiviiseen astiaan tai säiliöön. Anaerobiset eli hapettomat olosuhteet ovat fermentaation kannalta tärkeät ja ne saadaan tavallisesti aikaan lisäämällä painoja fermentoitavan raaka-aineen päälle, jolloin ylimääräinen ilma poistuu ja osmoosilla kasviksista siirtynyt tai valmistusvaiheessa lisätty vesi peittää ne alleen (Hutkins, 2006). Jäljelle jäänyt happi käytetään raaka-aineena olevien kasvien ja mikrobien soluhengityksessä (Hutkins, 2006). Astiaa tai säiliötä varastoidaan sopivassa lämpötilassa tietty aika. Tämän seurauksena raaka-aineen pinnan luonnolliset maitohappobakteerit muodostavat hiilihydraateista aineenvaihduntatuotteenaan maitohappoa (Hutkins, 2006). Tällöin luonnollinen fermentaatio saadaan aikaan raaka-aineessa jo valmiiksi olevilla mikro-organismeilla, joille täytyy mahdollistaa niiden kasvamiselle suotuisat olosuhteet, eli hapettomuus, sekä kilpailevan mikrobiston tukahduttaminen sellaisella ympäristöllä, jossa

kuitenkin toivotut mikrobit pystyvät kasvamaan, kuten lisäämällä suolan määrää (Voidarou et al., 2020).

3.2 Fermentaatio-olosuhteet

Toivottu fermentaatioprosessin vaikutus on pH:n lasku eli happamoituminen, joka tapahtuu ensin nopeasti, mutta tasaantuu prosessin edetessä (Yang et al., 2020). Nopea pH:n lasku onkin yksi merkittävä tekijä fermentaatioprosessin tasapainon ja turvallisuuden kannalta, sillä se rajoittaa haitallisten mikrobien kasvua (Van Beeck et al., 2020). Toinen tärkeä tekijä prosessin onnistumiselle on suolan määrä, sillä liiallinen tai liian vähäinen suolan pitoisuus tai suolan epätasainen jakautuminen häiritsee sekä mikrobien aineenvaihduntaa että niiden vesitasapainoa heikentäen mikrobien toimintaa (Hutkins, 2006).

Fermentoitavan kasviksen pinnalla olevan käymisprosessista vastaavan mikrobiston koostumuksissa on paljon vaihtelua raaka-aineiden välillä, sillä mikrobilajien määrasuhteet ovat riippuvaisia muun muassa kasvupaikan ja sadonkorjuun olosuhteista sekä käytössä olevista ravinteista (Di Cagno et al., 2013). Käymisreaktion aikana mikrobiyhteisön koostumus myös muuttuu useiden eri tekijöiden vaikutuksesta (Yang et al., 2020). Keskeisessä osassa tässä on pH, jonka aleneminen prosessin edetessä valikoi lisääntyvää happamuutta kestäviä mikrobeja, kun taas happamuutta sietämättömien mikrobien kasvu estyy (Yang et al., 2020). Maitohappobakteerien kasvien ja hedelmien hiilihydraateista muodostama maitohappo alentaa fermentoitavien tuotteiden pH:n lähelle arvoa 4, mikä vakauttaa prosessin happamiin oloihin (Montet & Ray, 2015).

Mikrobit eivät selviydy ilman vettä, joten vesi on välttämättömyys fermentaatioprosessille (Erkmen & Bozoglu, 2016). Vesiaktiivisuus kuvaa mikrobien käytössä olevaa vapaata vesimäärää (Erkmen & Bozoglu, 2016). Vesiaktiivisuuden pienentyessä myös mikrobien toiminta heikkenee (Erkmen & Bozoglu, 2016). Bakteerit vaativat enemmän vettä kasvaakseen kuin hiivat ja homeet selviävät hiivojakin pienemmässä vesiaktiivisuudessa (Erkmen & Bozoglu, 2016). Suurin osa fermentaatioprosessille hyödyllisistä maitohappobakteereista kasvaa parhaiten huoneenlämpötilassa tai sitä hieman alhaisemmassa lämpötilassa (Erkmen & Bozoglu, 2016), minkä takia spontaanifermentaatio usein aloitetaan huoneenlämmössä ja siirretään sen jälkeen hieman viileämpään jatkamaan prosessia.

Raaka-aineissa luonnollisesti olevat mikrobit, prosessiympäristön pH, lämpötila ja suolan määrä ovat tärkeimpiä tekijöitä spontaanin fermentaation onnistumisen kannalta (Montet & Ray, 2015). Kun fermentaatiolle suotuisat olosuhteet hapettomuuden, vesiaktiivisuuden, suolan konsentraation ja lämpötilan osalta ovat kohdallaan, pystyvät kasvien pintojen maitohappobakteerit käynnistämään maitohapon tuoton (Di Cagno et al., 2013). Toisinaan maitohappokäymisen rinnalla voi tapahtua samanaikaisesti myös alkoholikäymistä (Di Cagno et al., 2013). Esimerkiksi hapankaalin osalta bakteerien muodostama maitohappo paitsi estää pilaajamikrobien kasvua alentamalla pH:ta, voimistaa se myös aromia muodostamalla estereitä alkoholien kanssa (Yang et al., 2020).

Yleensä fermentaatio vaatii useampia prosessiin osallistuvia mikrobilajeja, jotka toimivat samaan aikaan tai peräkkäin (Erkmen & Bozoglu, 2016). Jokaisella mikro-organismilla on melko tarkat vaatimukset kasvuolosuhteille ja tästä syystä mikrobien kasvua rajoittavat usein niiden omasta aineenvaihdunnasta muodostuvat tuotteet, jotka metabolian jatkuessa muuttavat elinympäristöä (Erkmen & Bozoglu, 2016). Fermentaatioprosessin mikrobikasvua voidaan kontrolloida olosuhteita muuttamalla (Erkmen & Bozoglu, 2016).

Itse fermentaatio on usein vain osa tapahtumaketjua elintarvikkeen valmistuksessa. On hyvä muistaa, että myös raaka-aineen muulla käsittelyllä, kuten pesemisellä, liotuksella, pakkaamisella ja säilytyksellä on oma osansa tuotteen laadussa (Motarjemi, 2002).

Luonnollinen fermentaatio toimii parhaiten pienessä mittakaavassa, sillä sen hallinta ja valvonta vaikeutuu suuressa ja teollisessa tuotannossa (Randazzo et al., 2017). Koska spontaanilla fermentaatiolla valmistetut elintarvikkeet eivät tavallisesti ole täysin tasalaatuisia ja toisinaan prosessi epäonnistuu, jolloin erä joudutaan hävittämään, on pienemmissä valmistuserissä matalammat riskit tappiolle (Hutkins, 2006). Fermentaatiolla valmistettujen elintarvikkeiden riski kontaminaatiolle vähenee ja sitä kautta säilyvyys paranee, sillä usein prosessissa muodostuu hapon lisäksi myös antimikrobisia aineita, kuten etanolia sekä bakteerien kasvua hillitseviä yhdisteitä (Marco et al., 2017).

4 MIKROBIRYHMIEN MERKITYS FERMENTAATIOPROSESSISSA

4.1 Maitohappobakteerit

Maitohappobakteereille fermentaation kannalta tärkeitä ominaisuuksia ovat anaerobisuus ja maitohapon tuotto hiilihydraateista käymisreaktion kautta (Montet & Ray, 2015).

Maitohappobakteerit toimivat välttämättöminä tekijöinä elintarvikkeiden fermentaatioprosessissa (Montet & Ray, 2015). Suurin osa maitohappobakteereista kestää happamia oloja sekä pieniä määriä happea ympäristössään eli ne ovat aerotolerantteja tai fakultatiivisesti anaerobeja (Hutkins, 2006). Elintarvikkeiden fermentaatioon osallistuvat maitohappobakteerit ovat useimmiten sopeutuvaisia elinympäristönsä suhteen ja tämän takia ne pystyvät kasvamaan myös vähemmän ihanteellisissa oloissa (Hutkins, 2006).

Maitohappobakteerit fermentoivat usein sellaisia raaka-aineita, joissa on runsaasti hiilihydraatteihin kuuluvia mono- ja disakkarideja (Marco et al., 2017). Vaikka maitohappobakteereita olisi vain vähän kasviperäisessä raaka-aineessa, tulee niistä nopeasti hallitseva bakteeriryhmä fermentaatioprosessin alkaessa, sillä ympäristön olosuhteet tehdään tuotantovaiheessa maitohappobakteereille suotuisiksi (Jung et al., 2014). Yleisesti maitohappobakteerit menestyvät hyvin pH:n ollessa 4,0-4,5 (Erkmen & Bozoglu, 2016), mikä on useimpien fermentoimalla valmistettujen tuotteiden happamuus. Elintarvikkeiden säilyvyyden parantamisessa on maitohappobakteereilla suuri merkitys, sillä niiden maitohapon muodostus ja sitä kautta pH:n lasku tekee lopputuotteesta helpommin säilyvää verrattuna raaka-aineeseen (Anal, 2019).

Tärkein maitohappobakteerien ominaisuus elintarvikkeiden fermentaation kannalta onkin niiden kyky muodostaa aineenvaihdunnallaan maitohappoa ja muita happamia lopputuotteita hiilihydraateista (Hutkins, 2006). Mahdollisia metaboliareittejä on kaksi. Näistä homofermentatiivinen reitti tuottaa vain maitohappoa, kun taas heterofermentatiivinen reitti tuottaa maitohapon lisäksi muitakin lopputuotteita, kuten etanolia, etikkahappoa ja hiilidioksidia (Hutkins, 2006). Heterofermentatiiviset aineenvaihduntatuotteet tuovat myös organoleptisiin eli aistinvaraisiin ominaisuuksiin oman silauksensa, kuten ominainen tuoksu ja maku (Hutkins, 2006). Maitohappobakteerit ovat tavallisesti joko homo- tai heterofermentatiivisia, mutta löytyy yksittäisiä bakteerilajeja, jotka pystyvät toimimaan

aineenvaihdunnassaan molempia reittejä, kuten esimerkiksi *Lactiplantibacillus*-suvun lajit (Hutkins, 2006, Vinot & Pane, 2020).

Elintarvikkeiden fermentaatioon osallistuvat yleensä *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* ja *Oenococcus*-sukuihin kuuluvia bakteerilajeja (Montet & Ray 2015, Hutkins 2006). Näistä *Lactobacillus*-suku jaettiin uusiin sukuihin vuonna 2020 kuvaamaan paremmin bakteerien ominaisuuksia (Vinot & Pane, 2020), mutta selvyiden vuoksi tässä kappaleessa pitäydytään vanhassa luokittelussa, ja uusiin sukuihin viitataan *Lactobacillus*-suvun lajeina. *Lactococcus*-, *Pediococcus*- sekä jotkin *Lactobacillus*-sukujen bakteerit kuuluvat homofermentatiivisiin maitohappobakteereihin, kun taas *Leuconostoc*- ja toiset *Lactobacillus*-sukuun kuuluvat bakteerit (nykyään muun muassa *Lactiplantibacillus*-lajit) ovat heterofermentatiivisia (Erkmen & Bozoglu, 2016, Vinot & Pane, 2020).

Lactococcus lactis -maitohappobakteeri on erityisen tärkeä fermentaatioprosessille ja tätä bakteeria tavataan yleisesti kasvien mikrobiomeissa (Hutkins, 2006). Monet *Lactobacillus*-suvun bakteerit osallistuvat spontaaniin fermentaatioprosessiin alhaisissa lämpötiloissa, kuten 10-25°C (Erkmen & Bozoglu, 2016). *Lactobacillus*-suvun bakteerit ovat tehokkaita alentamaan ympäristön pH:ta ja ne voivatkin saada happomuodostuksellaan pH:ksi jopa 3,5 (Erkmen & Bozoglu, 2016). *Lactobacillus*-suvun bakteereita tavataan yleisesti monenlaisissa elinympäristöissä ja tämän suvun lajeja löytyy monesti kasvien normaalifloorasta (Hutkins, 2006).

Homofermentatiivisesti *Lactobacillus plantarum* (nykyään *Lactiplantibacillus plantarum*) tuottaa merkittäviä määriä maitohappoa, mutta se pystyy tuottamaan myös heterofermentatiivisesti muun muassa etanolia, etikkahappoa sekä hiilidioksidia (Montet & Ray, 2015, Vinot & Pane, 2020).

Leuconostoc-suvun bakteereita tavataan kasvien fermentaatioprosesseissa (Montet & Ray, 2015). Nämä maitohappobakteerit ovat mesofiilisiä eli niiden kasvulämpötila voi vaihdella 18°C ja 25°C välillä, mutta jotkin lajit pystyvät kasvamaan jopa alle 10 °C lämpötilassa (Hutkins, 2006). Esimerkiksi hapankaalin valmistuksessa *Leuconostoc*-suvun bakteerit, erityisesti *Leuconostoc mesenteroides*, huolehtivat prosessin alkuvaiheessa pH:n laskemisesta muodostamalla hiilidioksidia, jotta ympäristö muuttuisi suotuisammaksi muille tehokkaammin happoa muodostaville prosessiin osallistuville mikrobeille (Hutkins 2006, Erkmen & Bozoglu 2016). *Leuconostoc mesenteroides*in vahvuutena on sen sietokyky melko korkeita suola- ja sokeripitoisuuksia kohtaan sekä laaja kasvulämpötila-alue (Erkmen & Bozoglu, 2016). *Leuconostoc*- ja *Lactococcus* sukujen bakteerit toimivat usein yhteistyössä peräkkäin käymisreaktion edetessä (Bamforth, 2005). *Pediococcus*-suvun bakteereista

Pediococcus acidilactici, *Pediococcus pentosaceus* sekä *Pediococcus halophilus* osallistuvat usein spontaaniin fermentaatioon, sillä niitä esiintyy usein elintarvikkeiden raaka-aineissa (Montet & Ray, 2015). Näistä *Pediococcus acidilactici* sekä *Pediococcus pentosaceus* toimivatkin tärkeänä osana esimerkiksi hapankaalin fermentaatiossa (Hutkins, 2006). *Oenococcus*-suvun laji *Oenococcus oeni* on tärkeä osa viinin fermentaatioprosessia, sillä se kestää hyvin sekä happamia oloja että etanolia (Hutkins, 2006). Myös osa *Bacillus*-bakteerisuvun maitohappoa muodostavista bakteereista voi esiintyä fermentaatioprosesseissa, vaikka näitä ei luokitellakaan maitohappobakteereiksi (Montet & Ray, 2015).

Sen lisäksi, että maitohappobakteereilla on keskeinen rooli itse fermentaatioprosessissa, liitetään niihin muitakin ihmisen terveydelle suotuisia piirteitä. Maitohappobakteerit ovat yleisesti turvallisia eli eivät aiheuta sairastumisia ihmisille. Lisäksi niiden kulutukseen liitetään esimerkiksi suoliston normaalimikrobiston tasapainotus ja haitallisten taudinaiheuttajien torjuminen ruoansulatuskanavassa sekä elimistön vastustuskyvyn ylläpito (Montet & Ray, 2015). Ruoansulatuskanavaan kohdistuvat maitohappobakteerien vaikutukset voivat olla hyödyllisiä myös painohallinnassa (Marco et al., 2017).

4.2 Hiivat

Elintarvikkeissa hiivoilla voi olla sekä haluttuja ja valmistusprosessille hyödyllisiä vaikutuksia, että haitallisia ja pilaantumista aiheuttavia vaikutuksia (Montet & Ray, 2015). Hiivat kuuluvat taksonomisesti kunnaltaan sieniin (Hutkins, 2006). Hiivat ovat yksisoluisia ja ne lisääntyvät lajista riippuen kuroutumalla tai jakautumalla (Hutkins, 2006). Luonnossa hiivoja tavataan laajasti ilmassa, maaperässä sekä eliöiden pinnalla ja ruoansulatuskanavassa (Erkmen & Bozoglu, 2016). Hiivoista pieni osa kykenee kasvamaan aerobisten olojen lisäksi anaerobisissa oloissa ja käyttämään hiilihydraatteihin kuuluvia sokereita energianlähteenään käymisreaktiossa (Erkmen & Bozoglu, 2016). Tällöin hiivat muodostavat aineenvaihdunnallaan sokereista esimerkiksi hiilidioksidia ja etanolia sekä estävät samalla haitallisten homeiden kasvua jakautumisellaan kilpailun kautta (Montet & Ray, 2015). Hiivat jakautuvat toimintaperiaatteensa mukaisesti kahteen ryhmään: pinta- ja pohjahiivoihin (Erkmen & Bozoglu, 2016). Pintahiivat eli happea käyttävät hiivat jakautuvat nopeasti 20 °C lämpötilassa muodostaen etanolia sekä hiilidioksidia. Tämän seurauksena syntyy kuplia, joiden mukana pintahiivat nousevat nesteessä pinnalle muodostaen kerroksen, missä ne hapettavat orgaanisia happoja nostaen pH:ta (Erkmen & Bozoglu, 2016). Pohjahiivat taas

toimivat parhaiten 10-15 °C lämpötilassa, jakautuvat hitaammin muodostaen hiilidioksidia ja painuvat nesteessä pohjalle (Erkmen & Bozoglu, 2016). Hiivat pystyvät menestymään myös alhaisissa vesiaktiivisuuksissa sekä korkeissa sokeri- ja suolakonsentraatioissa (Bamforth, 2005). Useat hiivat pystyvät sekä aerobiseen että anaerobiseen metaboliaan ja tällöin sokerin, eli mono- tai disakkaridien, konsentraatio määrää sen, kumpaa aineenvaihduntareittiä käytetään (Bamforth, 2005). Sokerin määrän ollessa suuri, käyttävät hiivat anaerobista fermentaatiota, kun taas sokerin määrän ollessa vähäinen täytyy hiivojen maksimoida energiatuottonsa, jolloin käytetään aerobista metaboliaa (Bamforth, 2005).

Spontaanin fermentaation perustana toimivat kasvien ja hedelmien pinnan mikrobisto, joissa hiivoilla on suuri edustus (Di Cagno et al., 2013). *Saccharomyces*-suku on elintarvikkeiden fermentaation kannalta tärkein hiivaryhmä (Montet & Ray, 2015). Alkoholikäymiseen osallistuvat usein *Hanseniaspora*-, *Candida*-, *Kluyveromyces*-, *Pichia*-, *Saccharomyces*- sekä *Torulaspora*-sukujen hiivalajit (Montet & Ray, 2015). Elintarvikkeen makuun ja rakenteeseen tuovat positiivisen vaikutuksen monet hiivojen aineenvaihduntatuotteista (Montet & Ray, 2015). Esimerkiksi luonnollisella fermentaatiolla valmistetussa viinissä hiivoilla on suuri merkitys, sillä rypäleiden pinnalla olevat hiivat vastaavat alkoholikäymisestä tässä tilanteessa (Montet & Ray, 2015). Tällöin yksi hiivalaji ei kuitenkaan ole vastuussa koko käymisreaktiosta, vaan useat eri lajit vuorottelevat fermentaatioprosessin aikana (Hutkins, 2006). Hiivojen käymisreaktiot ovat omalta osaltaan vastuussa viinin lisäksi myös muiden elintarvikeryhmien ainutlaatuisista ominaisuuksista (Montet & Ray, 2015). Hiivat toimivat yhteistyössä myös maitohappobakteerien kanssa esimerkiksi oliivien fermentaatiossa (Randazzo et al., 2017). Elintarvikkeiden fermentaatiossa hiivojen osallistuminen on kuitenkin rajallista juuri hapettomien olojen takia (Erkmen & Bozoglu, 2016).

4.3 Homeet

Sienikuntaan kuuluvilla homeilla on paikkansa elintarvikkeiden valmistuksessa niiden ravinteita tuottavien ominaisuuksien takia (Montet & Ray, 2015). Homeet ovat aerobisia eli happea vaativia mikrobeja ja siksi ne eivät itse pysty aineenvaihdunnallaan käymisreaktioon (Erkmen & Bozoglu, 2016). Homeet pystyvät kuitenkin tuottamaan ja erittämään entsyymejä, jotka puolestaan pilkkovat orgaanisia yhdisteitä pienemmiksi, kuten hiilihydraatteja monosakkarideiksi sekä proteiineja aminohapoiksi (Erkmen & Bozoglu, 2016). Homeet osallistuvatkin usein esimerkiksi tärkkelyksen pilkkomiseen tai varsinaisen fermentaation

jälkeiseen kypsyttämiseen (Marco et al., 2017). Rakenteeltaan homeet ovat monisoluisia ja muodostavat rihmoja (Hutkins, 2006). Elintarvikkeiden valmistukseen käytettävien homesienten hyötyinä pidetään raaka-aineen edullisuutta, solujen nopeaa kasvua, allergisoimattomuutta sekä patogeenisuuden puutetta (Montet & Ray, 2015).

Tietyissä elintarvikkeissa homerihmastot kuuluvat tärkeänä osana niiden rakenteeseen tai muihin ominaisuuksiin, vaikka useimmiten näkyvän homeen esiintyminen tarkoittaa elintarvikkeen syömäkelvottomuutta (Voidarou et al., 2020). *Aspergillus*- ja *Penicillium*-suvuista on elintarviketeollisuuden käytössä useita homelajeja, kun taas *Rhizopus*- ja *Mucor*-suvuista on käytössä vain muutamia lajeja (Erkmen & Bozoglu, 2016). Vaikka sekä *Aspergillus*- että *Penicillium*-sukujen homeista osaa käytetään elintarvikkeiden fermentaatiossa, on suuri osa näiden sukujen lajeista myös potentiaalisia pilaajamikrobeja (Hutkins, 2006). Suurin osa homeista voi toimia elintarvikkeiden pilaajina ja jotkin näistä pystyvät tuottamaan myös homemyrkkyjä eli mykotoksiineja (Erkmen & Bozoglu, 2016). Vaikka kasvien pinnalla homeet ja hiivat ovat vallitsevia mikrobeja, jäävät homeet yleensä hiivojen voimakkaan kasvun varjoon (Di Cagno et al., 2013). Homeet ovat kuitenkin tärkeässä osassa kontrolloitua fermentaatiota heräteviljelmien osana (Erkmen & Bozoglu, 2016), kun taas spontaanissa fermentaatiossa niiden merkitys on todennäköisesti vähäisempi.

5 MIKROBIOLOGISET RISKIT JA NIIDEN HALLINTA

5.1 Fermentoituhiin kasvisruokiin liitetty ruokamyrkytykset

Yleisesti fermentoituja elintarvikkeita pidetään turvallisina ja tällaisiin tuotteisiin yhdistettyjä ruokamyrkytyksiä on raportoitu vain vähän. Useimmiten ruokamyrkytystapaukset johtuvat fermentoinnin epäonnistumisesta, sen riittämättömyydestä tai tuotteen kontaminaatiosta fermentoinnin jälkeen. Eräs raportoiduista ruokamyrkytystapauksista koski spontaanilla fermentaatiolla valmistettua vegaanista cashewpähkinäpohjaista levitettä, jonka oli epäilty aiheuttaneen salmonelloosia todennäköisesti ristikontaminaation sekä riittämättömän lämpötila- ja pH-kontrollin vuoksi (Schmitt et al., 2018). *Salmonella* on ollut ruokamyrkytyksen aiheuttajana myös hallitulla fermentaatiolla valmistetussa pastöroimattomassa tempeh-papuvalmisteessa, jossa patogeenin lähteeksi varmistettiin fermentaatioon käytetty herätelviljelmä (Griese et al., 2013). Enterotoksigeeninen *Escherichia coli* on aiheuttanut kaksi ruokamyrkytysepidemiaa kimchin välityksellä ja nämä tapaukset johtuivat riittämättömästä fermentoinnista eli hapatukselle ei annettu tarpeeksi aikaa (Shin et al., 2016). Yksi varmistettu tapaus ja yksi mahdollinen tapaus kotikeittiössä fermentoidusta tofusta on yhdistetty *Clostridium botulinum*-bakteerin toksinin aiheuttamaan botulismiin (Chai et al., 2013). Myös *Bacillus cereus* on aiheuttanut ruokamyrkytysepidemian fermentoitujen ja kuivattujen mustapapujen välityksellä, mutta tällöin ei selvitetty, miten bakteeri oli päätenyt tuotteeseen (Guoping et al., 2014). Fermentoitujen kasvisruokien aiheuttamat ruokamyrkytykset ovat siis harvinaisia verrattuna niiden kulutusmäärään, sillä fermentoituja elintarvikkeita käytetään erityisesti Aasian maissa erittäin runsaasti.

5.2 Kontaminaation ehkäisy ja hygieenisen toiminnan merkitys

Suotuisat fermentaatio-olosuhteet mahdollistavat maitohappobakteereille täyden hyödyn kasvien ja hedelmien raaka-ainemateriaalista, mikä parantaa lopputuotteen hygieenisyyttä ja säilyvyyttä sekä aistinvaraisia että ravintoarvollisia ominaisuuksia (Di Cagno et al., 2013). Koska spontaanilla fermentaatiolla valmistettujen tuotteiden fermentaatioprosessista huolehtiva mikrobisto nojaa raaka-aineen pinnalla sattumanvaraisesti oleviin mikrobeihin, pitävät jotkin tahot tällaisten tuotteiden turvallisuutta arveluttavana (Voidarou et al., 2020). Maitohappobakteerien hallitsevuus yhdistettynä pH:n laskuun tekevät kasvipohjaisista

fermentoiduista elintarvikkeista kuitenkin yleisellä tasolla turvallisia (Van Beeck et al., 2020). On todettu, että fermentaatioprosessi itsessään toimii osana puolustusta pilaajamikrobeja vastaan nopealla pH:n laskulla sekä hankaloittamalla pilaajien ravinnonsaantia vähentämällä hiilihydraatteja fermentoivien mikrobien käyttäessä niitä aineenvaihdunnassaan (Voidarou et al., 2020). Tässä prosessissa on silti heikkoutensa, sillä vaikka käyminen ja happamoituminen tapahtuisi miten nopeasti hyvänsä, jää mahdollisille raaka-aineessa oleville tai ympäristöstä siirtyneille pilaajamikrobeille ja taudinaiheuttajille silti aikaikkuna toimia ja kasvaa (Voidarou et al., 2020).

Cocolin ym. (2016) suosittelevat eräässä katsausartikkelissaan neljää tapaa, joilla voidaan parantaa luonnollisella fermentaatiolla valmistettujen elintarvikkeiden turvallisuutta. Esitettyjä tapoja ovat elintarviketurvallisuuden hallintajärjestelmien ottaminen osaksi vakiintuneita valmistusmenetelmiä, jatkuva vuorovaikutus ruoanvalmistajien ja fermentoitujen ruokien mikrobiologian asiantuntijoiden välillä, tiedonanto kuluttajille kotitekoisten fermentoitujen elintarvikkeiden mikrobiologisesta laadusta ja turvallisuudesta sekä fermentointireseptien mikrobiologisen laadun arviointi mikrobiyhteisöjä tutkimalla (Cocolin et al., 2016). Myös Motarjemi (2002) on koonnut yhteen tärkeimmät seikat, joilla voidaan vaikuttaa fermentoitujen elintarvikkeiden laatuun ja turvallisuuteen (kuva 4).

1. Raaka-aineen laatu eli miten puhdasta raaka-aine on
2. Kontaminaation alkuperäinen taso eli vallitsevista olosuhteista riippuva kontaminaatitaso
3. Hygienian ja puhtaanapidon taso eli valmistustilojen ja -välineiden puhtaus
4. Fermentaatio-olosuhteet eli sopivat olosuhteet esimerkiksi lämpötilan osalta
5. Saavutettu happamuuden aste

Kuva 4. Asiat, joihin fermentoitujen elintarvikkeiden hygieeninen laatu ja turvallisuus nojaavat (Motarjemi, 2002).

Toisinaan edellä mainittujen seikkojen hallinta voi olla hyvin haastavaa, erityisesti kotitalouksissa sekä alkeellisemmissä pienen mittakaavan tuotannoissa (Motarjemi, 2002).

Mikäli elintarvikkeita fermentaatiolla valmistavalla toimijalla ei ole tietotaitoa, kokemusta sekä erikoistumista kyseisestä valmistustavasta, voivat mahdolliset terveysriskit kuluttajille kasvaa (Cocolin et al., 2016). Hygieenisten riskien hallinta spontaanifermentaatioissa vaatii elintarvikkeiden tuottajalta laaja-alaista taustatietoa, minkä lisäksi itse prosessin hallinta vaatii kokemusta ja vastuunkantoa, jotta voidaan varmistua turvallisen lopputuotteen syntymisestä (Cocolin et al., 2016).

Hygieenisillä olosuhteilla on myös merkitystä mikrobikontaminaation osalta, sillä ruoanvalmistusastioiden kunnolla ja niiden puhtaudella, paljaiden käsien käytöllä, suojahanskojen käytöllä sekä välineiden puhtaudella on oma vaikutuksensa (Anal et al., 2020). Luonnollisen fermentaation aloitukseen voivat osallistua paitsi raaka-aineen pinnan mikrobit, myös mahdollisesti ympäristöstä ja tuotantotiloista peräisin olevat mikrobit (Yang et al., 2020). Tämän vuoksi on tärkeää varmistua paitsi raaka-aineiden laadusta ja puhtaudesta, mutta myös elintarvikkeiden valmistustilojen sekä -välineiden puhtaudesta, unohtamatta itse ruoanvalmistajan hygieenisiiä työskentelytapoja. Hygieenisillä toimintatavoilla raaka-aineen käsittelyssä ja ristikontaminaation välttämiseksi voidaan helposti parantaa fermentoitujen ruokien hygieenistä laatua (Anal et al., 2020). Myös itse elintarvikkeen valmistusprosessissa on kontaminaation mahdollisuus, vaikka raaka-aineet olisivat puhtaita, sillä ristikontaminaation riskiä kasvattaa erityisesti ruoanvalmistukseen ja valmiin elintarvikkeen säilytykseen sopimattomat lämpötilat sekä säilytysaika (Motarjemi, 2002). Näin elintarvikkeeseen kesken valmistuksen päätyneet haitalliset mikrobit saavat mahdollisuuden kasvaa valmiissa tuotteessa. Erityisesti kehittyvissä maissa tuottajien ja raaka-aineita käsittelevien opastaminen hygieenisiin työskentelytapoihin voi merkittävästi muuttaa lopputuotteen hygieenistä laatua paremmaksi ja vähentää mikrobiologisia riskejä (Anal et al., 2020). Kotitalouksissa valmistettuihin fermentoituihin kasvisruokiin liittyy mikrobiologisia riskejä, sillä kontaminaation mahdollisuus valmistusprosessin aikana kasvaa mahdollisen epähygieenisen ympäristön vuoksi (Yang et al., 2020).

Fermentoitujen tuotteiden säilyvyyden parantuminen perustuu pääsääntöisesti fermentoivien mikrobien muodostamiin muiden mikrobien kasvua rajoittaviin aineenvaihduntatuotteisiin, kuten esimerkiksi orgaanisiin happoihin, hiilidioksidiin, etanoliin, vetyperoksidiin, sekä muihin antimikrobisiin aineisiin, kuten bakteriosiineihin ja antimikrobisiin peptideihin, jotka yhdessä tai erikseen estävät pilaajamikrobien sekä taudinaiheuttajien kasvua (Di Cagno et al., 2013, Voidarou et al., 2020). Bakteriosiinit ovat bakteerien erittämiä pieniä proteiinimaisia aminohapoista koostuvia molekyylejä, jotka pystyvät tuhoamaan toisia, mutta samankaltaisia

bakteereja (Voidarou et al., 2020). Toiminta perustuu kalvorakenteiden vaurioittamiseen, jolloin bakteerisolu ei pysty ylläpitämään aineenvaihduntaansa (Bamforth, 2005).

Bakteriosiinin tuotto vaihtelee bakteerista riippuen, eivätkä kaikki bakteriosiinit ole antimikrobisilta ominaisuuksiltaan saman vahvuisia (Voidarou et al., 2020). Bakteriosiinit eivät ole myrkyllisiä eivätkä ne muuta tuotteen aistinvaraisia ominaisuuksia (Voidarou et al., 2020). Tästä syystä bakteriosiinit ovatkin herättäneet mielenkiintoa mahdollisuuksistaan elintarvikkeiden säilöntäaineina (Di Cagno et al., 2013). Esimerkiksi suolakurkkujen valmistuksessa luonnollisen fermentaation aikana maitohappobakteerit tuottavat useita bakteriosiineja sekä antimikrobisia peptidejä, jotka osaltaan estävät pilaajabakteerien kasvua (Di Cagno et al., 2013). Fermentoidun tuotteen happamuus on myös tärkeä puolustusmekanismi pilaajamikrobeja vastaan, sillä useimmat niistä eivät kestä alhaisia pH-arvoja (Voidarou et al., 2020).

Fermentoinnin epäonnistuessa lopputuloksena voi olla ei-toivottu tai joskus jopa terveydelle haitallinen tuote (Motarjemi, 2002). Nykyään ajankäytön tehokkuus on tärkeää, mutta elintarvikkeiden fermentaation kannalta hapatusajan lyhentäminen voi aiheuttaa lopputuotteen hygieenisen ja ravitsemuksellisen laadun heikkenemistä, sillä lyhyempi fermentoitumisaika vähentää maitohappobakteerien haponmuodostuksen tehokkuutta eikä happamuus näin ollen välttämättä yllä halutulle tasolle (Motarjemi, 2002). Tiedetään, että spontaanilla fermentaatiolla valmistettujen elintarvikkeiden turvallisuus on haastavaa varmistaa (Capozzi, Fragasso, & Russo, 2020), sillä prosessin kontrollointikeinoja ei juuri ole lämpötilan, suolapitoisuuden ja fermentoitumisaajan lisäksi.

5.3 Patogeenisten bakteerien torjunta valmistusprosessissa

Taudinaiheuttajabakteerien torjuntaa ja hallintamenetelmiä spontaanilla fermentaatiolla valmistetuissa ruokalajeissa käsitellään kolmen esimerkkielintarvikkeen avulla. Tähän kirjallisuuskatsaukseen elintarvikkeiksi valikoituivat oliivit, kimchi sekä hapankaali.

5.3.1 Oliivit

Suomessa oliivit myydään useimmiten säilykkeinä, mutta esimerkiksi Kreikassa oliiveja myydään yleisesti myös irtotavarana avoimissa säiliöissä ulko- tai huoneenlämmössä, riippuen onko kyse marketista vai torimyynnistä (Grounta, Nychas, & Panagou, 2013). Tämä altistaa myyntivalmiin tuotteen ympäristöstä tai ihmisistä siirtyvälle jälkikontaminaatiolle

(Grounta et al., 2013). Irtotavarana myytäessä oliivit eivät välttämättä ole suolaliuoksen peitossa, mikä taas voi aiheuttaa kontaminaatoriskin kohoamista (Grounta et al., 2013). Mahdollisen terveysongelman riskiä kasvattaa myös se, että oliivit, ovat valmiita syötäväiksi heti, eikä niitä yleensä käsitellä ennen käyttöä (Grounta et al., 2013). Tämä koskee myös muita tässä kappaleessa esimerkkeinä käsiteltäviä elintarvikkeita. Oliiveissa olevien mikrobien fermentaatiota säätelevät prosessin ympäristön olosuhteet, kuten lämpötila ja suolan konsentraatio (Randazzo et al., 2017). Oliivien käsittely alkaa huuhtelulla vesijohtovedellä, joka poistaa isoimmat roskat ja näkyvän lian, jonka jälkeen oliivit siirretään astiaan ja peitetään 8-13% natriumkloridi- eli ruokasuolaliuoksella (Grounta et al. 2013, Anagnostopoulos et al. 2020). Nesteen huomattavalla suolamäärällä pyritään sekä turvaamaan valmistusprosessin turvallisuus että vaikuttamaan lopputuotteen aistinvaraisiin ominaisuuksiin, kuten makuun (Anagnostopoulos, Kamilari, & Tsaltas, 2020). Astia suljetaan kannella ja jätetään huoneenlämpöön (20-23 °C) 2-4 kuukauden ajaksi (Grounta et al. 2013, Anagnostopoulos et al. 2020).

Randazzo et al. (2017) tutkimuksessa havaittiin, että oliivien pH laski 30 vuorokauden kuluessa luonnollisella hapattamisella lähes neutraalista (pH 7,3) selvästi happamaksi (pH 4,5). Tämä osoittaa, että oliivien luonnolliset mikrobit kykenevät tehokkaasti alentamaan pH:ta suotuisissa oloissa. Grounta et al. (2013) tutkimuksessa 60 vuorokauden fermentoitumisen jälkeen oliivien pH oli selvästi hapan (pH 3,9) ja suolan määrä 6,0%. Tässä tutkimuksessa selvitettiin patogeenisten *Salmonella* Enteridis, *Salmonella* Typhimurium, *E. coli* (O157:H7), *Listeria monocytogenes* sekä *Staphylococcus aureus*-bakteerien selviytymistä spontaanilla fermentaatiolla valmistetuissa oliiveissa lisäämällä kyseisiä taudinaiheuttajia valmiisiin oliiveihin käymisreaktion jälkeen ja säilyttämällä niitä sekä huoneenlämmössä (20 °C) että jääkaappilämpötilassa (4 °C) (Grounta et al., 2013). Tutkittujen patogeenisten bakteerien määrä romahti kaikkien näytteiden osalta kahden päivän kuluessa (Grounta et al., 2013). Vain *S. aureus* pystyttiin osoittamaan viljelymenetelmällä oliiveista toisen tutkimuspäivän jälkeen, mikä voi olla merkki siitä, että *S. aureus* voisi selvitä hieman muita tutkittuja bakteereita pidempään oliiveissa säilytyksen aikana (Grounta et al., 2013).

Grounta et al. (2013) totesivat tutkimuksessaan, että asianmukaisesti fermentoidut oliivit eivät toimi suotuisina kasvualustoina tutkituille taudinaiheuttajille. Avainasemassa patogeenien tuhoutumisessa on fermentaatiosta johtuvat olosuhteet oliiveissa, kuten happamuus (tässä tapauksessa pH 3,9) sekä suolan konsentraatio (tässä tapauksessa 6,0%) (Grounta et al., 2013). Tämä korostaa oikean fermentointimenetelmän ja parametrien (lämpötila, pH,

suolapitoisuus) käyttöä lopputuotteen mikrobiologisen turvallisuuden varmistamiseksi (Grounta et al., 2013). Eli mikäli valmistusprosessi on tehty asianmukaisesti, oliivien suolaliuoksen fermentaation aikaiset olosuhteet eivät tue patogeenisten bakteerien kasvua, vaan aiheuttavat mahdollisten taudinaiheuttajien pitoisuuden nopean laskun (Grounta et al., 2013). Grounta et al. (2013) tutkimus osoitti, että oikeanlaiset fermentaatio-olosuhteet sekä hygieeniset työskentelytavat oliivien valmistuksen ja jakelun aikana yhdessä estävät patogeenien esiintymistä valmiissa tuotteessa.

Spontaanifermentaation mikrobiologinen turvallisuus nojaa suurelta osin pH:n ja suolan määrän vaikutuksiin taudinaiheuttajien ja pilaajamikrobien kasvun estämisessä mahdollistaen kuitenkin samanaikaisesti haluttujen fermentoitivien mikrobien kasvun (Grounta et al., 2013). Tämän takia näitä molempia parametreja pidetään olennaisina osina turvallisessa fermentaatiprosessissa monien elintarvikkeiden valmistuksessa (Grounta et al., 2013). Happamuuden osalta pH-arvoa 4,5 voidaan pitää raja-arvona ja sen alittaminen voisi suojella oliiveja pilaantumiselta ja taudinaiheuttajilta säilytyksen aikana (Grounta et al., 2013). Tätä tukee se, että monen bakteerin kasvu estyy pH:n ollessa 4,6 tai se alle, sillä useimpien bakteerien optimaalinen pH-arvo on lähellä neutraalia (pH 7) (Erkmen & Bozoglu, 2016).

Anagnostopoulos et al. (2020) vertailivat tutkimuksessaan spontaanin ja heräteviljelmällä aikaansaadun oliivien fermentaation eroja happamuuden ja mikrobiston suhteen.

Tutkimuksessa havaittiin, että heräteviljelmällä käynnistetyn fermentaation pH laski nopeammin ja lopputuotteesta tuli happamampaa verrattuna spontaaniin prosessiin, minkä takia myös näytteistä tutkittujen enterobakteerien sekä koliformisten bakteerien pitoisuudet vähenivät nopeammin heräteviljelmänäytteessä (Anagnostopoulos et al., 2020). Nopeamman happamoitumisen ja alhaisemman pH:n vuoksi heräteviljelmällä suoritettua fermentaatiota voidaan siis pitää mikrobiologisesti turvallisempana prosessina, kuin spontaania fermentaatiota (Anagnostopoulos et al., 2020). Myös Randazzo et al. (2017) vertailivat tutkimuksessaan oliivien spontaania ja heräteviljelmällä käynnistettyä fermentaatiota.

Tutkimuksessa todettiin pilaantumista mahdollisesti aiheuttavia enterobakteereita spontaanisti käyneessä näytteessä, kun taas heräteviljelmää käytetyssä näytteessä kyseisiä bakteereita ei havaittu, mikä osaltaan vahvistaa heräteviljelmien käytön merkitystä lopputuotteiden turvallisuuden kannalta (Randazzo et al., 2017). Heräteviljelmien käyttö olisi siis suositeltavaa, jotta patogeenisten mikrobien kasvua ja selviytymistä hapatusprosessin aikana voitaisiin ehkäistä tehokkaasti spontaania fermentaatiota nopeammalla happamoitumisella

(Randazzo et al., 2017). Mutta heräteviljelmää käytettäessä oliivit eivät olisi enää todellisella spontaanilla fermentaatiolla valmistettuja.

Taudinaiheuttajien eliminoimisessa fermentaatioprosessissa kriittisin tekijä on suolaliuoksen nopea happamoituminen (Anagnostopoulos et al., 2020). Erityisesti raaka-aineen sisältämät maitohappobakteerit ovat vastuussa pH:n laskusta muodostamalla aineenvaihdunnallaan maitohappoa, joka tätä kautta estää haitallisten mikrobien kasvua sekä mahdollistaa turvallisen fermentaatioprosessin (Anagnostopoulos et al., 2020). Anagnostopoulos et al. (2020) totesivat oliivien fermentaatiotutkimuksessaan, että koagulaasi-negatiivisia *Staphylococcus*-bakteereita ei havaittu lainkaan 120 vuorokauden seurantajakson aikana, minkä lisäksi *Enterobacteriaceae*-heimoon kuuluvien bakteerien sekä koliformisten bakteerien määrä väheni jo ensimmäisten fermentaatiopäivien aikana.

5.3.2 Kimchi

Kimchin valmistuksessa raaka-aineen maitohappobakteerit sekä mahdolliset hiivat toimivat pääasiallisina fermentaatiomikrobeina (Kim, Zheng, & Shin, 2008). Kimchin hapatusprosessiin osallistuu useita maitohappobakteerilajeja, joiden pitoisuuden muuttuvat fermentaatiovaiheen mukaan (Kim et al., 2008). Yleisesti Kimchin pH:n tavoitteena pidetään arvoa 4,2, sillä tällöin kimchin maku on parhaimmillaan (Kim et al., 2008).

Maitohappobakteerien aineenvaihduntatuotteet, kuten orgaaniset hapot, diasetyyli, vetyperoksidi sekä mahdollinen bakteriosiinimuodostus, estävät monien elintarvikevälikkeiden taudinaiheuttajien kasvua (Kim et al., 2008). Maitohappobakteerit ja orgaaniset hapot vastaavatkin kimchin fermentaatioissa antimikrobisesta vaikutuksesta (Choi et al., 2018).

Valmiin kimchin happamuus (pH 4,1-4,5) tehostaa patogeenisten mikrobien estoa yhdessä muiden tekijöiden, kuten bakteriosiinien, kanssa (Kim et al., 2008). Oikein valmistetun kimchin kulutuksella ja elintarvikevälikkeillä sairastumisilla ei ole raportoitu yhteyttä eli valmiin kimchin syöminen ei ole aiheuttanut ruokamyrkytyksiä (Kim et al., 2008). Toisinaan kimchiä voidaan käyttää elintarvikkeena ilman fermentaatiota, jolloin kyseessä on raaka tai tuore kimchi, eikä valmiiseen tuotteeseen tällöin ole ehtinyt muodostua maitohappobakteerikantaa tai muita taudinaiheuttajia estäviä tekijöitä, joten tällainen tuore tuote voi aiheuttaa ruokamyrkytysriskin (Lee et al., 2017). Eli mikäli raaka-aineeseen on päätyntä taudinaiheuttajia, ei pelkkä vedellä huuhtelu sekä suolaliuoksessa liotus ja valutus riitä estämään patogeenien toimintaa.

Fermentoitujen ruokien tärkeimpiä taudinaiheuttajia vastustavia tekijöitä ovat alhainen pH, orgaaniset hapot sekä maitohappobakteerien muodostamat bakteriosiinit (Kim et al., 2008). Perinteisesti kimchi valmistetaan noin 10% suolaliuoksessa liotetusta ja valutetusta kiinankaalista sekä muista kasviksista, kuten sipulista, valkosipulista sekä inkivääristä ja mausteista (Kim et al., 2008). Kimchin fermentaatio voi tapahtua huoneenlämmössä (20 °C) (Kim et al., 2008) tai jääkaappilämpötilassa (2-6 °C) (Jung et al., 2014). Lämpötilaa pidetään tärkeänä tekijänä kimchin fermentaatiossa, sillä vaikka tavallisesti kimchin hapatus tapahtuu alhaisessa jääkaappilämpötilassa, voidaan toisinaan kimchi kuitenkin valmistaa myös korkeammissa lämpötiloissa prosessin nopeuttamiseksi (Jung et al., 2014). Suolan pitoisuus on myös merkittävä tekijä kimchin valmistuksessa (Jung et al., 2014). Tavallisesti kimchin valmistuksessa kasvisten suolapitoisuus valutuksen jälkeen on 2-3%, mikä on olosuhteiltaan suotuisa maitohappobakteerien kasvuille (Jung et al., 2014). Maitohappobakteerien muodostamat bakteriosiinit voivat olla merkittävässä asemassa taudinaiheuttajien torjunnassa ja tuotteen turvallisuuden varmistamisessa, sillä ne kykenevät paitsi estämään patogeenisten bakteerien kasvua, mutta myös ehkäisemään pilaantumista ja kimchin ylikypsymistä (Jung et al., 2014).

Kim et al. (2008) tutkivat valmiin kimchin kykyä vastustaa patogeenisten bakteerien kasvua säilytyksen aikana. Tutkimuksen tuloksena havaittiin, että kimchissä olevilla patogeenien kasvua estävillä vaikutuksilla pystyttiin ehkäisemään tutkittuja elintarvikevälikkeisiä taudinaiheuttajia (*B. cereus*, *L. monocytogenes* sekä *S. aureus*) (Kim et al., 2008). Erityisesti maitohappobakteerien kasvun osoitettiin olevan avaintekijä taudinaiheuttajien hallinnassa (Kim et al., 2008).

Lee et al. (2017) tutkivat, löytyykö kimchin eri tuotantovaiheissa tiettyjä taudinaiheuttajapatogeenia (*B. cereus*, enterohemorraaginen *E. coli*, *Clostridium perfringens*, *Clostridium jejuni/coli*, *S. aureus*, *Salmonella*, *L. monocytogenes* ja *Yersinia enterocolitica*). Sekä bakteerien viljely että perimän sekvensointi toimivat tutkimusmenetelminä tässä tutkimuksessa. Tutkimuksissa todettiin, että mitään tutkituista patogeeneista ei havaittu viljelymenetelmillä missään tuotantovaiheessa (Lee et al., 2017). Viljelystä riippumattomalla 16S rRNA-geenipätkän sekvenssianalyysiin perustuvalla menetelmällä havaittiin, että kaikissa tuotantovaiheissa oli viitteitä mahdollisten taudinaiheuttajabakteereista (Lee et al., 2017). Sekvensointimenetelmän heikkoutena oli kuitenkin lyhyt luentajakso, joten ei pystytty tarkkaan selvittämään, mikä bakteeri on kyseessä, vaan saatiin tietoa lähinnä bakteerin suvusta, minkä lisäksi sekvensointi ei kerro bakteerin elinkyvystä (Lee et al., 2017).

Tutkimuksessa havaittiin myös kimchin bakteeriyhteisön valtalajien muutos valmistusprosessin aikana, kun alkuvaiheessa potentiaaliset taudinaiheuttajat korvautuivat hapatuksen edetessä loppuvaiheen fermentoidun kimchin lähinnä maitohappobakteereista koostuvalla mikrobistolla (Lee et al., 2017). Tutkimuksessa korostettiin myös raaka-aineen huolellisen pesun vaikutusta mahdollisten patogeeneiden vähentämiseen, sillä huuhtelun aikana aerobisten bakteerien määrä väheni merkittävästi (Lee et al., 2017).

Choi et al. (2018) tutkivat *E. coli* ja *Salmonellan* selviytymistä kimchin fermentaation aikana eri lämpötiloissa (4 °C, 15 °C ja 25 °C). Tutkimuksessa havaittiin, että korkeammissa lämpötiloissa (15 °C ja 25 °C) sekä *E. coli* että *Salmonellan* määrät vähenivät hapatuksen edetessä (Choi et al., 2018). Taustalla tässä muutoksessa oli maitohappobakteerien määrän kasvu sekä niiden aineenvaihduntatuotteen, eli maitohapon, aikaan saama pH:n lasku (Choi et al., 2018). Taudinaiheuttajien määrät vähenivät myös jääkaappilämpötilassa tapahtuneessa fermentaatioissa, mutta muutos tapahtui hitaammin, eikä näytteen pH juuri muuttunut (Choi et al., 2018). Tästä voidaan päätellä, että pelkkä maitohappobakteerien lisääntyminen voi inhiboida näitä taudinaiheuttajia myös ilman pH:n alenemista (Choi et al., 2018). Toisaalta tässä tutkimuksessa ei otettu kantaa muihin mahdollisten antimikrobisten tekijöiden vaikutuksiin, kuten bakteriosiineihin. Choi et al. (2018) tutkimuksen edetessä todettiin, että kimchin riittävä fermentaatioaika vaihtelee lämpötilasta riippuen. Fermentaation tulisi kestää vähintään 48 tuntia, mikäli lämpötila on korkeampi kuin huoneenlämpö, tai jääkaappilämpötilassavähintään 16 vuorokautta, jotta lopputuote olisi turvallinen nautittavaksi (Choi et al., 2018). Tämä korostaa sekä lämpötilan että riittävän fermentaatioajan merkitystä tuotteen mikrobiologisen turvallisuuden kannalta (Choi et al., 2018).

5.3.3 Hapankaali

Hapankaalin ainekset koostuvat kaalista sekä suolasta. Silputun kaalin päälle siroteltu suola saa nesteen irtoamaan kaalista ja tavoitteena on saada aikaan 0,5-3,5 % suolaliuos, joka peittää kaalin alleen. Tätä kaalin ja suolaliuoksen yhdistelmää fermentoidaan painojen alla huoneenlämmössä kuukauden ajan (Yang et al., 2020). Hapankaalin valmistuksessa on myös paljon eroja, sillä toisinaan suolaliuoksen suolapitoisuus on jopa 6-8% ja fermentaatioaika vain 6-10 vuorokautta (Xiong, Guan, Song, Hao, & Xie, 2012). Perinteisen aasialaisen hapankaalin fermentaation suorittavat kaalin pinnalla luonnollisesti oleva mikrobisto, johon kuuluu muun muassa maitohappobakteerilajeja sekä hiivoja (Yang et al., 2020). Happamuus eli pH-arvo kuvaa parhaiten hapankaalin kypsyyttä eli pH kertoo fermentaation etenemisestä (Yang et al., 2020). Perinteiset fermentointimenetelmät, joita myös kotikeittiöissä käytetään,

eivät sisällä valmiin elintarvikkeen pastörointia eli kuumennuskäsittelyä, joka tuhoaisi mahdolliset hapatusreaktiosta selvinneet taudinaiheuttajat (Niksic et al., 2005).

Yang et al. (2020) tutkivat Kiinassa eri kotitalouksissa valmistettujen hapankaalien mikrobistoa ja fermentaatio-olosuhteita. Tutkimuksessa havaittiin, että kaikissa näytteissä pH-arvo laski nopeasti fermentaatioprosessin alkuvaiheessa, jonka jälkeen happamuus tasaantui hapatuksen edetessä (Yang et al., 2020). Tutkimuksessa osoitettiin myös, että happamuudelle herkkien bakteerien kasvu estyi pH:n laskiessa maitohapon vaikutuksesta (Yang et al., 2020). Toisaalta havaittiin myös myöhemmässä vaiheessa happamiin oloihin sopeutuneiden bakteerien kasvupotentiaali (Yang et al., 2020). Tästä voidaan päätellä, että taudinaiheuttajat, jotka ovat kehittäneet vastustuskykyä happamaan ympäristöön, voivat nostaa osaltaan ruokamyrkytysriskiä. Joillekin elintarvikeperäisille patogeeneille, kuten *L. monocytogenes*, voi kehittyä sietokykyä hapanta ympäristöä kohtaan (Niksic et al., 2005), mikä tekee tällaisista taudinaiheuttajista ongelmallisia fermentoiduissa elintarvikkeissa.

Ruokamyrkytyksiä aiheuttavan patogeenisen *E. coli* (O157:H7) on myös havaittu olevan erityisen vastustuskykyinen happamia olosuhteita kohtaan ja sitä voi löytyä kontaminanttina hapankaalin raaka-aineesta (Niksic et al., 2005).

Xiong et al. (2012) tutkivat hapankaalin mikrobiston muutoksia fermentaation edetessä. Tutkimuksessa havaittiin hapankaalin pH:n laskevan hapatusreaktion alun arvosta 6,02 seitsemän päivän kuluessa arvoon 3,25 (Xiong et al., 2012). Tämän perusteella siis viikon fermentaatioaika riittää laskemaan pH:n turvallisena pidetyn rajan alle. Xiong et al. (2012) tutkimuksissa osoitettiin myös fermentoivien mikrobien pitoisuuksien muutokset pH-arvon muutoksen vaikutuksesta. Erityishuomiona oli fermentaation alussa hapankaalissa runsaana todettu suolistoperäinen *Enterococcus faecalis*-bakteeri, jota ei enää havaittu näytteistä kolmantena käymispäivänäpäivänä (Xiong et al., 2012).

Niksic et al. (2005) tutkivat lisätyn *L. monocytogenes* ja *E. coli* (O157:H7) selviytymistä hapankaalin fermentaation aikana sekä silputussa kaalissa että kokonaisissa kaalinpäissä eri lämpötiloissa ja suolamäärissä. Tutkimuksessa havaittiin fermentaatioreaktion lopussa pH:n olevan matalampi kokonaisissa kaalinpäissä verrattuna silputtuun, mutta happopitoisuus oli silputussa kaalissa huomattavasti suurempi (Niksic et al., 2005). Silputun kaalin suuremman happopitoisuuden katsottiin estävän taudinaiheuttajia tehokkaammin ja vähentävän niiden määrää nopeammin, kuin kokonaisten kaalinpäiden alhaisempi pH-arvo (Niksic et al., 2005). Vaikka tutkimuksessa havaittiin taudinaiheuttajia useissa molempien versioiden näytteissä

fermentaatioprosessin aikana, oli taudinaiheuttajien määrä kuitenkin vähentynyt alle havaittavan tason hapatusreaktion loppuun mennessä, joka oli silputulla kaalilla 15 vuorokautta ja kokonaisilla kaalinpäillä 28 vuorokautta (Niksic et al., 2005). Onkin siis tärkeää tuntea eri tavoilla valmistetun hapankaalin valmistusmenetelmien erot, jotta lopputuotteen mikrobiologinen turvallisuus voidaan taata. Niksic et al. (2005) osoittivat tutkimuksessaan, että perinteisillä menetelmillä valmistetuissa hapankaaleissa *E. coli* ja *L. monocytogenes* voidaan eliminoida, mikäli fermentaatio suoritetaan asianmukaisesti. Näiden taudinaiheuttajien selviytymiseen voivat kuitenkin vaikuttaa muutokset suolan määrässä sekä lämpötilassa, mutta tutkimuksessa todettiin, ettei fermentaation lopussa kumpaakaan patogeenia esiintynyt merkittäviä määriä (Niksic et al., 2005).

5.3.4 Yhteenveto patogeenisten bakteerien torjunnasta

Spontaanin fermentaatioprosessin merkittävät patogeenisia bakteereita estävät tekijät liittyvät pH:n alenemiseen sekä fermentoivien mikrobien kilpailuun ravinteista ja taudinaiheuttajien kasvua estäviin aineenvaihduntatuotteisiin (Montet & Ray, 2015). Esimerkkeinä käsiteltyjen elintarvikkeiden valmistuksessa korostuivat tärkeinä patogeenisia bakteereita ehkäisevinä tekijöinä tuotteen nopea happamoituminen eli pH-arvon voimakas lasku heti hapatusreaktion alkuvaiheessa, suolan konsentraatio liuoksessa eli raaka-aineeseen lisätyn suolan määrä sekä fermentaatioaika eli kuinka pitkään hapatusreaktion annettiin tapahtua. Myös fermentaatiota ylläpitävien mikrobien, kuten maitohappobakteerien, patogeeneja estävät ominaisuudet tulivat esille sekä suoran kilpailun että bakteriosiinimuodostuksen kautta. Lopullisen tuotteen laatu ja turvallisuus riippuvat siis fermentaatioprosessin mikrobikehityksestä (Capozzi et al., 2017).

Fermentoitavien ruokien raaka-aineissa voidaan tavata ulosteperäisestä kontaminaatiosta ilmaisevia bakteereja, kuten esimerkiksi *Enterococcus*-suvun lajeja, ja useat näistä voivat kontaminaation lisäksi aiheuttaa infektioita ihmisille (Hutkins, 2006). Mutta vaikka raaka-aine olisi saastunut ulosteperäisillä bakteereilla, eivät nämä tavallisesti aiheuta terveysriskiä fermentaatioprosessin jälkeen, sillä hapatusreaktion epäsuotuisat olosuhteet ja kilpailu muiden mikrobien kanssa estävät niiden lisääntymisen ruokamyrkytyksen aiheuttavalle pitoisuudelle (Di Cagno et al., 2013). Hygieenisten työskentelytapojen käyttäminen ruoanvalmistuksessa onkin erityisen tärkeää, sillä tämä auttaa yleisesti ehkäisemään taudinaiheuttajien kontaminaatiota, lisääntymistä ja selviytymistä elintarvikkeissa (Motarjemi, 2002).

Bakteerien sopeutumiskyky voi aiheuttaa ongelmia mikrobiologisen laadun takaamiselle. Patogeenien rajoittaminen fermentaatiossa perustuu laajalti epäsuotuisiin ja kasvua estäviin

olosuhteisiin, mutta esimerkiksi *L. monocytogenes* sekä enterohemorragisen *E. coli* on havaittu sopeutuvan happamiin ja suolaisiin olosuhteisiin (Cocolin et al., 2016), mikä voi vaikuttaa näiden taudinaiheuttajien selviytymiseen hapatusprosessissa. Vaikka edellä kuvatuissa tutkimuksissa patogeenisiä bakteereita ehkäistiin tehokkaasti, on kuitenkin olemassa elintarvikeperäisiä taudinaiheuttajia, joihin maitohappokäyminen ei vaikuta ja siksi elintarvikkeiden fermentoinnin rinnalla tulisi käyttää myös muita hallintakeinoja, kuten raaka-aineen huolellista puhdistusta tai kypsentämistä, jotta voidaan varmistaa turvallinen lopputuote (Motarjemi, 2002). Esimerkiksi *C. botulinum*-bakteerin muodostama botuliinitoksiini ei tuhoudu fermentaatio-olosuhteissa, mutta keittäminen tai kypsentäminen tuhoaa toksiinin (Chai et al., 2013).

5.4 Toksiset riskit

Spontaanilla fermentaatiolla valmistetuissa elintarvikkeissa voi piillä itse tautia aiheuttavien patogeenien lisäksi myös mikrobeista peräisin olevia myrkyllisiä aineenvaihduntatuotteita, jotka voivat aiheuttaa terveysriskin ihmisille (Capozzi et al., 2020). Myrkyllisiä tuotteita eli toksiineja tuottavat mikrobit voivat kuitenkin olla patogeeneja salakavalampia, sillä saman mikrobilajin eri kannoista toinen saattaa olla hyödyllinen fermentaatioprosessille, kun taas toinen voi vapauttaa haitallisia toksiineja ympäristöönsä (Capozzi et al., 2020).

5.4.1 Biogeeniset amiinit

Eläimissä, kasveissa ja mikrobeissa esiintyy luontaisesti biogeenisiä amiineja, jotka ovat pienen molekyyllipainon omaavia tyypipitoisia yhdistettä (Anal et al., 2020). Biogeenisiä amiineja ovat esimerkiksi histamiini, fenylylietyyliamiini, isoamylamiini, kadaveriini, putreskiini, spermiini, spermiidiini, tryptamiini ja tyramiini (Anal et al. 2020, Capozzi et al. 2020). Biogeenisillä amiineilla on monenlaisia tehtäviä elimistössä, kuten osallistua geenien ilmentymisen säätelyyn ja vaikuttaa solujen lisääntymiseen sekä erilaistumiseen (Anal et al., 2020). Fermentoiduista elintarvikkeista on löydetty biogeenisiä amiineja ja elintarvikkeet, jotka sisältävät suuria määriä näitä yhdisteitä voivat aiheuttaa terveysriskin niiden mahdollisten toksisten vaikutusten takia (Anal et al., 2020). Maitohappobakteerit, jotka osallistuvat isossa roolissa myös fermentaatioprosessiin, ovat yksi mikrobiryhmä, jotka voivat tuottaa biogeenisiä amiineja (Anal et al., 2020). Biogeenisten amiinien kertyminen fermentoituun elintarvikkeeseen vaatii suotuisat olosuhteet muun muassa pH:n, suolapitoisuuden sekä lämpötilan suhteen, sekä rakennusmateriaaleja eli ympäristössä tulee olla biogeenisten

amiinien esiasteita sekä entsyymejä, joilla aminohappoja voidaan käsitellä (Anal et al., 2020). Yleisimmin fermentoitujen elintarvikkeiden biogeeniset amiinit ovat peräisin mikrobien aikaansaamasta aminohappojen dekarboksylaatiosta (Anal et al., 2020). Biogeenisten amiinien aiheuttamia oireita voivat olla muun muassa päänsärky, pahoinvointi sekä pahimmassa tapauksessa herkillä yksilöillä jopa anafylaktinen sokki (Cocolin et al., 2016). Biogeenisten amiinien kontrollointiin ei ole tällä hetkellä standardoitua menetelmää, mutta menettelytapoja niiden hallintaan ja vähentämiseen elintarvikkeissa tulisi kehittää (Anal et al., 2020). Laadukkaat raaka-aineet ja hygieenisten tuotantotapojen käyttö voivat kuitenkin vähentää biogeenisten amiinien liiallista muodostusta (Pohjanvirta, 2007).

5.4.2 Mykotoksiinit

Mykotoksiinit eli homemyrkyt ovat homesienten tuottamia myrkyllisiä aineenvaihduntatuotteita (Pohjanvirta, 2007). Useat homesienet pystyvät tuottamaan mykotoksiineja, kuten osa *Aspergillus*-, *Fusarium*- ja *Penicillium*-sukujen lajeista (Anal et al., 2020). On olemassa eri tyyppisiä homemyrkyjä, joista jotkut ovat vain yhden lajin tuottamia, mutta yleisempää on, että samaa mykotoksiinia pystyy tuottamaan useampi homelaji (Anal et al., 2020). Maailmanlaajuisesti ihmisten terveydelle merkityksellisimpiä mykotoksiineja ovat aflatoksiini, okratoksiini A, fumonisiini B1, zearaleone, deoksinivalenoli, nivalenoli, T-2-toksiini sekä patuliini (Anal et al., 2020). Mykotoksiinien vaikutukset ihmiselle vaihtelevat karsinogeenisuudesta munuaistoksisuuteen ja ruoansulatuskanavaoireisiin homemyrkyistä ja altistumisesta riippuen (Pohjanvirta, 2007). Erityisesti viljat ja palkokasvit, mutta myös muut maatalouden tuotteet, ovat alttiita mykotoksiinilla saastumiselle (Anal et al., 2020). Saastuminen mykotoksiinilla voi tapahtua raaka-aineessa ennen sadonkorjuuta tai sen jälkeen varastoinnin yhteydessä (Anal et al., 2020). Mykotoksiinit ovat kestäviä yhdisteitä, niitä ei voida tuhota edes kypsentämällä, eikä myöskään hapatusreaktion olosuhteilla ole vaikutusta, joten fermentoiduissa elintarvikkeissa homemyrkyjen esiintymisen riski on samanlainen, kuin fermentoimattomissa (Anal et al., 2020). Ei ole olemassa keinoja poistaa mykotoksiinia turvallisesti sen päädyttyä elintarvikkeeseen (Anal et al., 2020). Tämän takia ennaltaehkäisy on erittäin tärkeää ja ainoa hallintakeino on pyrkiä välttämään homeiden kasvulle optimaalisia olosuhteita, kuten kosteutta ja sopivaa lämpötilaa (Anal et al., 2020). Hapettomat olot ehkäisevät tehokkaasti homeiden kasvua (Montet & Ray, 2015), mutta mikäli fermentointiastia ei ole tiivis, on homeilla mahdollisuus kasvaa tuotteen pinnalla.

5.5 Antibioottiresistenssi

Lisääntyvää antibioottiresistenssiä eli bakteereiden kasvavaa vastustuskykyä mikrobilääkkeille pidetään yhtenä tulevaisuuden vakavimmista ihmisille terveysuhkaa aiheuttavista tekijöistä. Antibiootteja käytetään bakteeriperäisten infektioiden hoitoon ihmisillä ja eläimillä sekä joissain maissa tuotantoeläinten kasvunedistäjinä (Heikinheimo, 2007). Myös kasviperäisten bakteerien aiheuttamien tautien hoitoon käytetään mikrobilääkkeitä ja näissäkin bakteereissa on havaittu kehittyvän resistenssiä lääkeaineille (Heikinheimo, 2007).

Bakteereilla on kyky siirtää osia omasta DNA:staan eli perimästään toisiin bakteereihin ja tätä mekaniikkaa hyödyntämällä myös mikrobilääkkeille resistentit geenit voivat siirtyä bakteerien välillä (Voidarou et al., 2020). Vaikka toiset bakteerit ovat luonnostaan vastustuskykyisiä tiettyjä mikrobilääkkeitä vastaan, ei tällainen resistenssi kuitenkaan pysty siirtymään bakteerien välillä, vaan ainoastaan hankittu resistenssi eli mutaatiolla tai toisen bakteerin perimän kautta saadut vastustuskykyiset geenit voivat siirtyä bakteerista toiseen (Voidarou et al., 2020). Antibioottiresistenssin ongelmia lisää se, että resistentit geenit voivat olla peräisin sekä patogeenisista että tautia aiheuttamattomista bakteereista (Voidarou et al., 2020). Eli haitallisen bakteerin ei ole välttämätöntä muodostaa itse perimän mutaation kautta vastustuskykyä lääkeaineille, vaan resistenssi voidaan hankkia toisen, tavallisen ja ei-patogeenisen, bakteerin perimästä. Tämä voi aiheuttaa huomattavan terveydellisen riskin, sillä on mahdollista, että ihmisen luonnolliseen mikrobistoon kuuluvat bakteerit voivat hankkia antibiooteille resistenttejä geenejä ja siirtää niitä eteenpäin elimistöön päässeille taudinaiheuttajille esimerkiksi suolistossa (Voidarou et al., 2020). Bakteereiden on myös mahdollista hankkia vastustuskykyä usealle eri mikrobilääkeaineelle samanaikaisesti (Heikinheimo, 2007).

Antibiooteille resistenttejä geenejä voidaan tavata myös fermentaatiossa hyödynnettävien bakteerien perimässä (Voidarou et al., 2020). Monilla fermentoiduissa elintarvikkeissa runsaana esiintyvillä maitohappobakteereilla, kuten *Lactobacillus*-suvun bakteereilla, on todettu hankittua vastustuskykyä usealle eri mikrobilääkeaineelle (Voidarou et al., 2020). Spontaanisti fermentoidut elintarvikkeet voivat siis sisältää antibiooteille resistenttejä bakteereita ja nämä bakteerit saavat ruoansulatuskanavaan päästyään tilaisuuden siirtää resistenttejä geenejä eteenpäin mahdollisille taudinaiheuttajille ja elimistön omille mikrobeille (Anal et al., 2020).

Mikrobilääkeresistenssi on maailmanlaajuinen ongelma ja siihen puuttumiseen vaaditaan antibioottien käytön järjeistämistä ja rajoittamista lainsäädännön avulla maataloudessa sekä vesiviljelyssä (Voidarou et al., 2020). Myös antibiooteille resistenttien elintarvikeperäisten taudinaiheuttajien esiintyvyyden kartoittaminen elintarvikeketjussa kohentaisi elintarviketurvallisuutta (Anal et al., 2020). Yleisellä tasolla hygieeniset tuotantotavat sekä ristikontaminaation välttäminen vähentävät mikrobien, myös antibiooteille resistenttien bakteerien, leviämistä elintarvikeketjussa (Heikinheimo, 2007).

6 SPONTAANIFERMENTAATIO JA KESTÄVÄ RUOANTUOTANTO

Vaikka luonnollinen fermentaatio on ollut jo pitkään käytössä perinteisesti tuotettujen elintarvikkeiden valmistusmenetelmänä, on sillä paikkansa myös sekä nykyaikaisessa että tulevaisuuden ruoanvalmistuksessa. Kehittyneiden maiden yksi suurista ruokaan liittyvistä ongelmista on pois heittävä syömäkelpoisen ruoan määrä. Säilyvyyden parantamisen voidaan katsoa vähentävän ruokahävikkiä, sillä fermentaatiotuote säilyy syömäkelpoisena pidempään raaka-aineena käytettyyn tuoreeseen kasvikseen verrattuna (Van Beeck et al., 2020). Myös kierrätysratkaisuihin, kuten ruoantuotantoketjun sivutuotteiden hyödyntämiseen ja käsittelyyn, etsitään kestäviä ratkaisuja muun muassa fermentaatiosta (Kahala, 2020). Fermentaatiolla on mahdollisuus edullisesti ja tehokkaasti säilöä elintarvikkeita jopa ilman jääkaappia tai muita turvallisena pidettyjä varastointikeinoja (Motarjemi, 2002). Fermentoinnin aikana tuotteen tilavuus myös pienenee raaka-aineeseen verrattuna, mikä osaltaan helpottaa valmiin elintarvikkeen varastointia (Anal, 2019). Kestävän kehityksen näkökulmasta lihan kulutusta tulisi vähentää ja kasvien osuutta suurentaa päivittäisestä ruokavaliosta. Fermentoitujen kasvisvalmisteiden nauttiminen onkin yksinkertainen ja moneen ruokakulttuuriin sopiva tapa lisätä kasvien saantia (Di Cagno et al., 2013). Fermentaation käyttö kasviproteiinien muokkaamiseksi ihmiselle hyväksikäytettävämpään muotoon onkin yksi kiinnostava tutkimuskohde (Kahala, 2020). Elintarvikkeiden valmistustavoista fermentaatio on ainoa, jolla voidaan parantaa elintarvikkeen ravintoarvoa (Björkroth, 2007). Tätä korostaa myös se, että fermentaatiossa muodostuneet mikrobikannat voivat tuoda elintarvikkeeseen sellaisia ravitsemuksellisia ominaisuuksia, joita ei pelkässä raaka-aineessa ole (Marco et al., 2017).

Fermentoitujen elintarvikkeiden sisältämät mikrobit vaikuttavat positiivisesti moniin raaka-aineen ravintoaineisiin, kuten esimerkiksi proteiineihin, vitamiineihin, välttämättömiin aminohappoihin sekä rasvahappoihin (Anal, 2019). Ravitsemuksellisten vaikutustensa lisäksi fermentoidut elintarvikkeet sisältävät myös mikrobiologisesti elimistölle hyödyllisiä tekijöitä, jotka voivat vaikuttaa positiivisesti kuluttajan terveyteen (Voidarou et al., 2020). Probiooteilla eli terveyttä edistävillä elävillä mikrobeilla sekä prebiooteilla eli hyödyllisten mikrobien toimintaa tukevilla ainesosilla on laajoja vaikutuskohteita elimistössä, kuten ruoansulatuskanavan, ihon sekä suun terveys (Voidarou et al., 2020). Säännöllinen

fermentoitujen tuotteiden nauttiminen onkin yhdistetty yleiseen suoliston hyvinvointiin sekä tulehduksellisten suolitautisairauksien oireiden lievittämiseen, kuin myös suun terveyden tukemiseen (Voidarou et al., 2020).

Vaikka hapattamisella valmistetut elintarvikkeet mielletään yleisesti hyvin terveellisiksi, tulisi myös muita terveydelle negatiivisia seikkoja mahdollisen taudinaiheutuspotentiaalin lisäksi ottaa huomioon. Useat fermentoidut tuotteet, kuten oliivit, sisältävät paljon suolaa ja nykyään kuluttajat, jotka tiedostavat liiallisen suolan kulutuksen terveysriskit, vaativat myös vähempisuolaisia valmisteita (Anagnostopoulos et al., 2020). Suolan suuri konsentraatio vaikuttaa osaltaan elintarvikkeen mikrobiologiseen laatuun ja turvallisuuteen estämällä patogeenien ja pilaajamikrobien kasvua (Anagnostopoulos et al., 2020), mutta suolan määrää vähennettäessä täytyisi tilalle ottaa käyttöön muita keinoja laadun ja turvallisuuden takaamiseksi.

Maailman ruokajakauma ei ole tasapuolinen ja maapallon väestöstä suuri osa kärsii aliravitsemuksesta ja peruselintarvikkeiden riittämättömyydestä (Anal, 2019). Fermentoimalla valmistetut elintarvikkeet voisivat olla yksi ratkaisu tämän ongelman lievittämiseksi (Anal, 2019), sillä tällaiset tuotteet ovat sekä valmistusmenetelmiltään että säilytysolosuhteiltaan vaatimattomia. Alunperinkin historiassa fermentaation tarkoituksena oli säilöä ruokaa ja samalla tasoittaa elintarvikkeiden saatavuutta, sillä säilyvyytensä vuoksi aiemmin valmistettuja fermentoituja tuotteita pystyttiin käyttämään myös silloin, kun tuoreista ruoan lähteistä oli pulaa (Anal, 2019). Koska elintarvikkeiden valmistaminen spontaanilla fermentaatiolla on paljon käytössä kehittyvissä maissa edullisuutensa ja luotettavan säilöntätapansa vuoksi (Anal et al., 2020), voisi kuvitella, että tulevaisuudessa myös kehittyneissä maissa voitaisiin ottaa yhä enemmän käyttöön tällaisia valmistustapoja muun muassa kustannus- ja energiansäästösyistä.

Viime aikoina pinnalla olleet ympäristötietoiset ja taloudelliset trendit kannustavat paluuta spontaaniin fermentaatioon perinteisten ja käsityöllä valmistettujen elintarvikkeiden osalta (Capozzi et al., 2017), mutta tekniikan kehittyessä halutaan varmasti löytää myös uusia mahdollisuuksia hyödyntää luonnollista fermentaatiota ruoantuotannossa. Sekä historiallisesti, että tälläkin hetkellä fermentoiduilla elintarvikkeilla on maailmanlaajuisesti niin taloudellisesti, ravitsemuksellisesti kuin terveydellisestikin merkittävä rooli yhteiskunnassa (Capozzi et al., 2017). Spontaanissa fermentaatiossa yhdistyvät nykyaikana pinnalla olevat ekologisuus, taloudellisuus sekä käsityöläisyys ja näiden kestävää kehitystä tukevien trendien

nousun vuoksi luonnollinen fermentaatio ruoanvalmistusmenetelmänä on ikään kuin löydetty uudelleen. Mikrobien hyötykäytöllä, kuten fermentoinnilla, on huomattava potentiaali alati kasvavassa maailmanlaajuisessa ruokatarpeessa (Erkmen & Bozoglu, 2016). Tieteelliset tutkimukset ovatkin osoittaneet lupaavia ja kestävästä kehitystä tukevia mahdollisuuksia spontaanisti fermentoitujen elintarvikkeiden osalta, joita voidaan tulevaisuudessa hyödyntää ruoantuotannossa (Anal, 2019).

7 POHDINTA

Spontaanifermentaatio ruoanvalmistusmenetelmänä vaikuttaa teoriassa yksinkertaiselta ja sen käytännön toteutus onnistuu kotikeittiössäkkin suhteellisen helposti, mutta valmiin tuotteen mikrobiologisen laadun varmistaminen voi olla haastavaa. Tärkeässä osassa on reseptin tarkka seuraaminen, sillä kuten aiemmin on todettu, muun muassa suolan määrällä ja oikealla lämpötilalla sekä fermentointiajalla on suuri vaikutus tuotteen lopulliseen laatuun.

Fermentointireseptejä on kuitenkin valtavasti ja erityisesti internetin syövereistä löytyy sekä suomeksi että muilla kielillä runsaat määrät valmistusohjeita, jotka voivat poiketa toisistaan paljonkin. Miten siis voidaan varmistua, että juuri valittu resepti tuottaa turvallisen lopputuotteen? Tuotteen happamuus on tärkein yksittäinen parametri ja hapatuksessa tulisikin pyrkiä alittamaan pH-arvo 4,5 Grounta et al. (2013) esityksen mukaan, jotta pilaantuminen ja taudinaiheuttajat voitaisiin välttää. Myös Anagnostopoulos et al. (2020) korostivat happamoitumista ja erityisesti sen nopeaa saavuttamista kriittisenä tekijänä taudinaiheuttajien eliminoimisessa. Useat lähteinä käytetyt tutkimukset patogeenisten bakteerien selviytymisestä spontaanisti fermentoiduissa elintarvikkeissa päätyivät yhteneväiseen lopputulokseen, eli asianmukaisesti fermentoidut kasvisruoat ehkäisevät tehokkaasti tutkittujen patogeenien selviytymistä, joten näiden tutkimusten tuloksia voidaan pitää kohtuullisen luotettavina.

Koska happamuus on avainasemassa tuotteen turvallisuuden näkökulmasta, voisi fermentoinnin yhteydessä tehdyt pH-arvon mittaukset antaa osviittaa hapatuksen onnistumisesta. Yhtenä ratkaisuna tähän voisi olla pH-paperin käyttö, jossa värireaktio kertoisi happamuuden. Vaikka pH-paperilla ei saataisikaan tarkkaan määritettyä pH-arvoa, saisi sillä kuitenkin suuntaa antavan tuloksen ja voisi varmistua, että lopputuotteen pH-arvo on alle 4,5. Valmiin lopputuotteen kypsentyminen ennen nauttimista varmistaisi sen turvallisuuden, mutta tuotteen aistinvaraiset ominaisuudet voisivat kärsiä tästä ja samalla hyödyllisten maitohappobakteerien määrä vähenisi selvästi.

Yleisellä tasolla spontaanisti fermentoitavan elintarvikkeen laatuun ja turvallisuuteen voidaan vaikuttaa monella tavalla. Laadukkaat ja puhtaat raaka-aineet luovat pohjan laadukkaalle lopputuotteelle. Hygieenisillä olosuhteilla eli puhtailla ruoanvalmistustiloilla ja -välineillä sekä hygieenisillä työskentelytavoilla ehkäistään ympäristöstä peräisin olevaa saastumista. Tuotteen tehokas happamoituminen fermentoinnin aikana on avainasemassa ja hapatuksen riittävyys voidaan varmistaa mittaamalla pH-arvo fermentoinnin lopussa. Lisäksi lämpötilan

kontrollointi on tarpeen, sillä fermentaatio tapahtuu nopeammin huoneenlämmössä kuin jääkaappilämpötilassa.

Vaikka fermentoituja elintarvikkeita pidetään yleisesti terveellisinä ja asianmukaisesti valmistettuina niiden mikrobiologiset riskit ovat vähäisiä, ei niiden kuluttamista voida kuitenkaan suositella aivan kaikille. Fermentoidut elintarvikkeet sisältävät aina eläviä mikrobeja, ja vaikka näihin mikrobeihin ei kuuluisi patogeenisia lajeja, voivat hyödyllisetkin mikrobit aiheuttaa ongelmia esimerkiksi vastustuskyvyltään erityisesti heikentyneille ihmisille. Terveille ihmisille spontaanisti fermentoidut elintarvikkeet ovat siis mainio lisä ruokavalioon, mutta riskiryhmäläisten tulisi harkita tarkkaan näiden tuotteiden käyttöä.

LÄHTEET

Anagnostopoulos, D.A., Kamilari, E. & Tsaltas, D. 2020, Evolution of Bacterial Communities, Physicochemical Changes and Sensorial Attributes of Natural Whole and Cracked Picual Table Olives During Spontaneous and Inoculated Fermentation, *Frontiers in microbiology*, 11, s. 1128. DOI 10.3389/fmicb.2020.01128.

Anal, A. 2019, Quality Ingredients and Safety Concerns for Traditional Fermented Foods and Beverages from Asia: A Review, *Fermentation (Basel)*, 5(1), s. 8. DOI 10.3390/fermentation5010008.

Anal, A.K., Perpetuini, G., Petchkongkaew, A., Tan, R., Avallone, S., Tofalo, R., Nguyen, H.V., Chu-Ky, S., Ho, P.H., Phan, T.T. & Waché, Y. 2020, Food safety risks in traditional fermented food from South-East Asia, *Food control*, 109, s. 106922. DOI 10.1016/j.foodcont.2019.106922.

Bamforth, Charles W. 2005, Food, Fermentation, and Micro-organisms, Blackwell Science, Oxford, England.

Björkroth Johanna. Fermentointi. Teoksessa: Korkeala Hannu (toim.) 2007, Elintarvikehygienia: ympäristöhygienia, elintarvike- ja ympäristötoksikologia, WSOY Oppimateriaalit, Helsinki, Suomi. 317-322.

Capozzi, V., Fragasso, M., Romaniello, R., Berbegal, C., Russo, P. & Spano, G. 2017, Spontaneous Food Fermentations and Potential Risks for Human Health, *Fermentation (Basel)*, 3(4), s. 49. DOI 10.3390/fermentation3040049.

Capozzi, V., Fragasso, M. & Russo, P. 2020, Microbiological Safety and the Management of Microbial Resources in Artisanal Foods and Beverages: The Need for a Transdisciplinary Assessment to Conciliate Actual Trends and Risks Avoidance, *Microorganisms (Basel)*, 8(2), s. 306. DOI 10.3390/microorganisms8020306.

Chai, E., Choi, E., Guitierrez, C., Hochman, M., Johnkutty, S., Kamel, W., Mekles, T., Zarnegar, R., Ackelsberg, J., Balter, S., Lee, E., Li, L., Ramos, A., Rodriguez, T., Weiss, D., Yung, J., Zhao, B., Davis, S., Egan, C., Sreenivasan, N., 2013, Botulism Associated with

Home-Fermented Tofu in Two Chinese Immigrants - New York City, Morbidity and Mortality Weekly Report, 62(26):529-532

Choi, Y., Lee, S., Kim, H.J., Lee, H., Kim, S., Lee, J., Ha, J., Oh, H., Choi, K. & Yoon, Y. 2018, Pathogenic *Escherichia coli* and *Salmonella* Can Survive in Kimchi during Fermentation, *Journal of food protection*, 81(6), s. 942-946. DOI 10.4315/0362-028X.JFP-17-459.

Cocolin, L., Gobbetti, M., Neviani, E. & Daffonchio, D. 2016, Ensuring safety in artisanal food microbiology, *Nature microbiology*, 1(10), s. 16171. DOI 10.1038/nmicrobiol.2016.171.

Di Cagno, R., Coda, R., De Angelis, M. & Gobbetti, M. 2013, Exploitation of vegetables and fruits through lactic acid fermentation, *Food Microbiology*, 33(1), s. 1-10. DOI 10.1016/j.fm.2012.09.003.

Erkmen, O. & Bozoglu, T.F. 2016, Food microbiology: principles into practice, Wiley, Chichester, West Sussex, England.

Griese, S. E., Fleischauer, A. T., MacFarquhar, J. K., Moore, Z., Harrelson, C., Valiani, A., Morrison, S. E., Sweat, D., Maillard, J. M., Griffin, D., Springer, D., Mikoleit, M., Newton, A. E., Jackson, B., Nguyen, T. A., Bosch, S., Davies, M. 2013, Gastroenteritis outbreak associated with unpasteurized tempeh, North Carolina, USA. *Emerging infectious diseases*, 19(9), 1514–1517. <https://doi.org/10.3201/eid1909.130334>

Grounta, A., Nychas, G.E. & Panagou, E.Z. 2013, Survival of food-borne pathogens on natural black table olives after post-processing contamination, *International journal of food microbiology*, 161(3), s. 197-202. DOI 10.1016/j.ijfoodmicro.2012.12.017.

Guoping Zhou, Kai Bester, Bin Liao, Zushun Yang, Rongrong Jiang, and Niels Bohse Hendriksen. 2014, Characterization of Three *Bacillus cereus* Strains Involved in a Major Outbreak of Food Poisoning After Consumption of Fermented Black Beans (Douchi) in Yunan, China. *Foodborne Pathogens and Disease*, 11(10) s. 769-774. <http://doi.org/10.1089/fpd.2014.1768>

Heikinheimo Annamari. Antimikrobiresistenssin siirtyminen eläimistä ihmisiin. Teoksessa: Korkeala Hannu (toim.) 2007, Elintarvikehygieniä: ympäristöhygieniä, elintarvike- ja ympäristötoksikologia, WSOY Oppimateriaalit, Helsinki, Suomi. 156-162.

Hutkins, Robert W. 2006, Microbiology and Technology of Fermented Foods, 1.p., IFT Press, Chicago, Illinois, USA.

Jung, J.Y., Lee, S.H. & Jeon, C.O. 2014, Kimchi microflora: history, current status, and perspectives for industrial kimchi production, *Applied Microbiology and Biotechnology*, 98(6), s. 2385-2393. DOI 10.1007/s00253-014-5513-1.

Kahala M. Hapan trendi kotikeittiöissä ja tutkijan pöydällä - Luonnonvarakeskuksen blogiartikkeli. <https://www.luke.fi/blogi/hapan-trendi-kotikeittiossa-ja-tutkijan-poydalla/>, haettu 17.3.2021, päivitetty 18.2.2020.

Kim, Y., Zheng, Z. & Shin, D. 2008, Growth Inhibitory Effects of Kimchi (Korean Traditional Fermented Vegetable Product) against *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes*, and *Staphylococcus aureus*, *Journal of Food Protection*, 71(2), s. 325-332. DOI 10.4315/0362-028X-71.2.325.

Lee, H., Yoon, S., Kim, S., Lee, H.M., Lee, J.Y., Lee, J., Kim, S.H. & Ha, J. 2017, Identification of microbial communities, with a focus on foodborne pathogens, during kimchi manufacturing process using culture-independent and -dependent analyses, *Food science & technology*, 81, s. 153-159. DOI 10.1016/j.lwt.2017.04.001.

Marco, M.L., Heeney, D., Binda, S., Cifelli, C.J., Cotter, P.D., Foligné, B., Gänzle, M., Kort, R., Pasin, G., Pihlanto, A., Smid, E.J. & Hutkins, R. 2017, Health benefits of fermented foods: microbiota and beyond, *Current Opinion in Biotechnology*, 44, s. 94-102. DOI 10.1016/j.copbio.2016.11.010.

Mitjonen Johanna. Miltä maistuu hyvä hapankaali? Kokki pääsi vastauksen jäljille ja suosittelee nyt herkkua kaikille. Maaseudun Tulevaisuus - ruoka-artikkeli. <https://www.maaseuduntulevaisuus.fi/ruoka/artikkeli-1.778753>. haettu 4.4.2021, päivitetty 1.1.2020.

Montet, D. & Ray, R.C. 2015, Microorganisms and fermentation of traditional foods, CRC Press, Boca Raton, Florida, USA.

Motarjemi, Y. 2002, Impact of small scale fermentation technology on food safety in developing countries, *International journal of food microbiology*, 75(3), s. 213-229. DOI 10.1016/s0168-1605(01)00709-7.

Niksic, M., Niebuhr, S.E., Dickson, J.S., Mendonca, A.F., Kozickowski, J.J. & Ellingson, J.L.E. 2005, Survival of *Listeria monocytogenes* and *Escherichia coli* O157:H7 during Sauerkraut Fermentation, *Journal of Food Protection*, 68(7), s. 1367-1374. DOI 10.4315/0362-028X-68.7.1367.

Pohjanvirta Raimo. Biogeeniset amiinit. Teoksessa: Korkeala Hannu (toim.) 2007, Elintarvikehygienia: ympäristöhygienia, elintarvike- ja ympäristötoksikologia, WSOY Oppimateriaalit, Helsinki, Suomi. 279-280.

Pohjanvirta Raimo. Mykotoksiinit. Teoksessa: Korkeala Hannu (toim.) 2007, Elintarvikehygienia: ympäristöhygienia, elintarvike- ja ympäristötoksikologia, WSOY Oppimateriaalit, Helsinki, Suomi. 262-265.

Randazzo, C.L., Todaro, A., Pino, A., Pitino, I., Corona, O. & Caggia, C. 2017, Microbiota and metabolome during controlled and spontaneous fermentation of Nocellara Etnea table olives, *Food Microbiology*, 65, s. 136-148. DOI 10.1016/j.fm.2017.01.022.

Shin J., Yoon K.B., Jeon D.Y., Oh S.S., Oh K.H., Chung G.T., Kim S.W., Cho S.H. 2016, Consecutive Outbreaks of Enterotoxigenic *Escherichia coli* O6 in Schools in South Korea Caused by Contamination of Fermented Vegetable Kimchi. *Foodborne Pathogens and Disease*. 13(10):535-543. doi: 10.1089/fpd.2016.2147.

Van Beeck, W., Verschueren, C., Wuyts, S., van den Broek, Marianne F. L, Uyttendaele, M. & Lebeer, S. 2020, Robustness of fermented carrot juice against *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* Typhimurium and *Escherichia coli* O157:H7, *International journal of food microbiology*, 335, s. 108854. DOI 10.1016/j.ijfoodmicro.2020.108854.

Vinot N. & Pane M. 2020, The Lactobacillus taxonomy change has arrived! What do you need to know? *Microbiome Times*. <https://www.microbiometimes.com/the-lactobacillus->

taxonomy-change-has-arrived-what-do-you-need-to-know/. haettu 15.3.2021, päivitetty 21.4.2020.

Voidarou, C., Maria Antoniadou, Rozos, G., Tzora, A., Skoufos, I., Varzakas, T., Lagiou, A. & Bezirtzoglou, E. 2020, Fermentative Foods: Microbiology, Biochemistry, Potential Human Health Benefits and Public Health Issues, *Foods*, 10(1), s. 69. DOI 10.3390/foods10010069.

Xiong, T., Guan, Q., Song, S., Hao, M. & Xie, M. 2012, Dynamic changes of lactic acid bacteria flora during Chinese sauerkraut fermentation, *Food control*, 26(1), s. 178-181. DOI 10.1016/j.foodcont.2012.01.027.

Yang, X., Hu, W., Xiu, Z., Jiang, A., Yang, X., Saren, G., Ji, Y., Guan, Y. & Feng, K. 2020, Microbial Community Dynamics and Metabolome Changes During Spontaneous Fermentation of Northeast Sauerkraut From Different Households, *Frontiers in microbiology*, 11, s. 1878. DOI 10.3389/fmicb.2020.01878.